

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BAKIR(II) KELATLARININ ASKORBİK ASİDİN
OKSİDASYONUNDAKİ KATALİTİK ETKİLERİNİN
SPEKTROFOTOMETRİK İNCELENMESİ**

Kimyager Ebru ALDEMİR

**FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Tez Sunum Tarihi: 25.07.2007

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Filiz İMER (YTÜ)

Doç.Dr.Filiz İMER

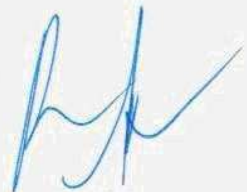


Prof.Dr.İnci SÖNMEZOĞLU



İSTANBUL, 2007

Prof.Dr.Reşat APAK



İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ	i
KISALTMA LİSTESİ	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BÖLÜM	3
2.1 Askorbik Asit	3
2.1.1 Tarihçesi ve Özellikleri	3
2.1.2 Fizikokimyasal Özellikler	4
2.1.2.1 Fiziksel Özellikleri ve Molekül Yapısı	4
2.1.2.2 Kimyasal Özellikleri	5
2.1.3 Farmakolojik Etkisi	8
2.1.4 Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Kararlılığı	10
2.1.5 Antioksidan Özelliği	11
2.1.6 Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri	13
2.2 Amino Asitler	17
2.2.1 Genel Özellikleri	17
2.2.2 Amino Asitlerin Asit-Baz Özellikleri	20
2.2.3 Amino Asitlerin Çözünürlüğü	22
2.2.4 Amino Asitlerin Optik Özelliği	22
2.2.5 Çalışmada Kullanılan Amino Asitler	24
2.2.5.1 Alaninin (Ala) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	24
2.2.5.2 Asparajinin (Asn) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	26
2.2.5.3 Aspartik Asidin (Asp) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	26
2.2.5.4 Fenilalaninin (Phe) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	27
2.2.5.5 Glisinin (Gly) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	29
2.2.5.6 Glutamik Asidin (Glu) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	30
2.2.5.7 Glutaminin (Gln) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	31
2.2.5.8 Histidinin (His) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	32
2.3 Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi	33
2.3.1 Lamber-Beer Yasası	35
2.3.1.1 Lambert-Beer Yasasından Sapmalar	38
2.4 Birinci Dereceden Reaksiyonlar	39
2.5 Daha Önceki Çalışmalar	40
2.5.1 Metal, Ligand ve Polimer Katalizli ve Katalizsiz Askorbik Asit Oksidasyonu	40
2.5.2 Askorbik Asit Tayin Yöntemleri	50
2.5.3 Amino Asit Çalışmaları	51

2.5.4	Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi	53
3.	DENEYSEL BÖLÜM	54
3.1	Kullanılan Maddeler	54
3.2	Araç ve Gereçler	55
3.3	Çözeltiler	57
3.4	Yöntem	58
3.4.1	Örnek Hazırlanması ve Kinetik Ölçümler	59
3.4.2	AA Saptama Prosedürü	60
4.	SONUÇLAR.....	61
4.1	Kinetik Çalışmalar	61
4.1.1	Teorik Yaklaşım	61
4.1.2	Katalizörsüz ve Bakır(II) İyon Katalizli Oksidasyon	61
4.1.3	Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Cu(II) İyon Konsantrasyonu Etkisi.....	62
4.1.4	Amino Asit Varlığında Cu(II) İyon Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonu.....	62
4.1.5	Amino Asit Varlığında Cu(II) Katalizli AA Oksidasyonunun Genel Özellikleri	63
5.	TARTIŞMA.....	107
	KAYNAKLAR.....	109
	EKLER.....	114
	Ek-1 pH 4,5 da Cu(II) iyonları varlığında farklı amino asit ve konsantrasyonlarda spesifik hız sabitlerinin standart sapma hesapları	114

SİMGE LİSTESİ

a	Çözeltiden geçen ışık demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit
A	Absorbans
A^-	Askorbat iyonu
$A^{\cdot-}$	Askorbat radikali
AH^-	Dehidroaskorbik asit
c	Konsantrasyon
E_0	Standart elektrot potansiyeli
ε	Ekstinksiyon katsayısı
I_0	Gelen ışın demetinin şiddeti
I	Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti
k	Birinci derece reaksiyonun hız sabiti
k_d	Katalizli ve katalizsiz birinci mertebeden hız sabitleri arasındaki fark
K	Spesifik hız sabiti
K_a	Asit disasiyasyon sabiti
l	Çözeltinin konduğu hücrenin kalınlığı
λ_{maks}	Maksimum absorbans dalga boyu
pK	Asit sabiti
pI	İzoelektrik nokta
t	Reaksiyon süresi
T	Transmitans

KISALTMA LİSTESİ

AA,H ₂ A	Askorbik asit
Ala	Alanin
Asn	Asparajin
Asp	Aspartik asit
2,6-DCPIP	2,6 – Diklorofenol-indofenol
CDTA	1,2sikloheksandiamintetraasetikasit
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity
DHAA	Dehidroaskorbik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
DTPA	Dietilentriamin tetraasetik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ESR	Elektron spin rezonans
FDA	Food drug administration
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GC	Gaz kromatografisi
Gly	Glisin
Gln	Glutamin
Glu	Glutamik asit
GSH	Glutation
HEDTA	N-hidroksi etiletilendiamintetraasetik asit
His	Histidin
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
IR	Infrared
MS	Mössbauer spektroskopisi
nm	Nanometre
NBS	N-bromosüksinimid
NMR	Nükleer magnetik rezonans
Nc	Neocuproine
Phy	Fenilalanin
PVP	Poli – 4 – vinilpiridin
RS	Raman spektroskopisi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UV	Ultraviyole
UV-VIS	Ultraviyole visible

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	Askorbik asidin molekül şekli.....	5
Şekil 2.2	Askorbik asit-dehidroaskorbik asit redoks reaksiyonu	6
Şekil 2.3	Askorbik asidin 2,6-diklorofenol-indofenol ile resksiyonu	15
Şekil 2.4	Amino asitlerin genel molekül şekli.....	18
Şekil 2.5	Dipolar iyonlu amino asit (Zwitterion şekli).....	18
Şekil 2.6	Cu(II)-amino asit kompleksinin molekül şekli.....	20
Şekil 2.7	Amino asitlerin asidik yapısı.....	20
Şekil 2.8	Amino asitlerin bazik yapısı.....	21
Şekil 2.9	Basit amino asitler için titrasyon eğrisi	21
Şekil 2.10	Alaninin molekül şekli	24
Şekil 2.11	Asparajinin molekül şekli.....	26
Şekil 2.12	Aspartik asidin molekül şekli	26
Şekil 2.13	Fenilalaninin molekül şekli	27
Şekil 2.14	Glisin molekül şekli	29
Şekil 2.15	Glutamik asidin molekül şekli.....	30
Şekil 2.16	Glutaminin asidin molekül şekli	31
Şekil 2.17	Histidinin molekül şekli	32
Şekil 2.18	Elektromagnetik spektrum	33
Şekil 2.19	Elektronların geçiş düzeyleri.....	34
Şekil 2.20	UV Spektroskopinin spektrum ve kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 2.21	Birinci dereceden bir reaksiyonda konsantrasyon-zaman grafiği	40
Şekil 2.22	[HACu(II)] ⁻ kompleks	42
Şekil 2.23	[HACu(II)O ₂] ⁻ kompleks	43
Şekil 2.24	Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu.....	49
Şekil 2.25	Bakır(II)-histidin kompleksinin yapısı	52
Şekil 3.1	Deney düzeneği	56
Şekil 3.2	Bis(Nc)-bakır kelatı.....	59
Şekil 4.1	450 nm' de 5,67x10 ⁻⁴ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait örnek spektrum ve absorpsiyon değerleri.....	64
Şekil 4.2	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	83
Şekil 4.3	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	83
Şekil 4.4	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	84
Şekil 4.5	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	84
Şekil 4.6	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	85
Şekil 4.7	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	85
Şekil 4.8	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	86
Şekil 4.9	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	86

Şekil 4.10	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	87
Şekil 4.11	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	87
Şekil 4.12	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	88
Şekil 4.13	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	88
Şekil 4.14	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	89
Şekil 4.15	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	89
Şekil 4.16	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	90
Şekil 4.17	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	90
Şekil 4.18	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	91
Şekil 4.19	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	91
Şekil 4.20	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	92
Şekil 4.21	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	92
Şekil 4.22	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	93
Şekil 4.23	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	93
Şekil 4.24	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	94
Şekil 4.25	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	94

Şekil 4.26	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	95
Şekil 4.27	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	95
Şekil 4.28	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	96
Şekil 4.29	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	96
Şekil 4.30	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	97
Şekil 4.31	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	97
Şekil 4.32	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	98
Şekil 4.33	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	98
Şekil 4.34	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	99
Şekil 4.35	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	99
Şekil 4.36	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A:1, B:5, C:10, D:20) x 10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	100
Şekil 4.37	0,785x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A:1, B:5)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	100
Şekil 4.38	1,57x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A:1, B:5)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	101
Şekil 4.39	3,14x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A:1, B:5)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	101
Şekil 4.40	4,71x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A:1, B:5)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	102
Şekil 4.41	6,28x10 ⁻⁷ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A:1, B:5)x10 ⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler.....	102

Şekil 4.42	Asetat tamponlu alanin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Ala], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	103
Şekil 4.43	Asetat tamponlu asparajin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Asn], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	103
Şekil 4.44	Asetat tamponlu aspartik asit çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Asp], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	104
Şekil 4.45	Asetat tamponlu fenilalanin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Phe], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	104
Şekil 4.46	Asetat tamponlu glisin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Gly], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	105
Şekil 4.47	Asetat tamponlu glutamik asitxHCl çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M GluxHCl], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	105
Şekil 4.48	Asetat tamponlu glutamin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10 ⁻⁴ M Gln], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	106
Şekil 4.49	Asetat tamponlu histidin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5) x 10 ⁻⁴ M His], k _d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark.....	106

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1	Bazı amino asitler için R grupları, pK ve pI değerleri.....	23
Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, firmaları ve katalog numaraları.....	54
Çizelge 4.1	Farklı alanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	65
Çizelge 4.2	Farklı asparajin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	66
Çizelge 4.3	Farklı aspartik asit ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	67
Çizelge 4.4	Farklı fenilalanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	68
Çizelge 4.5	Farklı glisin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	69
Çizelge 4.6	Farklı glutamik asitxHCl ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	70
Çizelge 4.7	Farklı glutamin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	71
Çizelge 4.8	Farklı histidin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi.....	72
Çizelge 4.9	Farklı alanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	73
Çizelge 4.10	Farklı asparajin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	74
Çizelge 4.11	Farklı aspartik asit ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	75
Çizelge 4.12	Farklı fenilalanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	76
Çizelge 4.13	Farklı glisin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	77
Çizelge 4.14	Farklı glutamik asitxHCl ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	78
Çizelge 4.15	Farklı glutamin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	79

Çizelge 4.16	Farklı histidin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k).....	80
Çizelge 4.17	Farklı Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbens değerlerinin zamanla değişimi ve hız sabitleri.....	81
Çizelge 4.18	pH 4,5' de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbens değerlerinin zamanla değişimi ve hız sabiti.....	81
Çizelge 4.19	Askorbik asidin pH 4,5 değerinde farklı Cu(II)-amino asit katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri.....	82

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı büyük titizlikle yöneten, her zaman her konuda bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli hocalarım Doç. Dr. Filiz İMER ve Prof. Dr. İnci SÖNMEZOĞLU' na sonsuz minnet ve şükran duygularımı sunarım.

Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi laboratuvarında bana çalışma olanağı sağlayan Kimya Eğitimi Bölüm Başkanı Prof. Dr. Musa Şahin ve Yrd. Doç. Dr. Hasan Kılıç' a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın yürütülmesinde bana yol gösteren İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Reşat APAK ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen ve anlayış gösteren aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

C vitamini (askorbik asit:AA) insanoğlunun beslenmesinde birçok biyokimyasal reaksiyona katılan önemli bir suda çözünen antioksidan vitamindir. Bakır çeşitli besinlerde ve ilaç ürünlerinde bulunan eser metaldir. Doğal ya da katılmış C vitamini içeren besinlerin antioksidan değerini korumak çok önemlidir. Cu(II) gibi serbest geçiş metal iyonları askorbat ile redüklendiklerinde tüketicilerde hücre hasarına neden olan ve besin kalitesini etkileyen hidroksil radikalleri üreten fenton tipi reaksiyonlar verebilir. Bazı amino asitler varlığında AA'nın katalitik oksidasyonu UV spektral bölgede girişimlere neden olabileceğinden, doğrudan UV spektrofotometrik takip edilemez; bu yüzden çözeltide kalan AA'nın spektrofotometrik tayini, bakır(II)-neocuproine reaktifi ile amonyum asetat tamponlu ortamda 450 nm deki absorbansın kaydı üzerinden yapılmıştır. AA' nın 25°C de ve iyonik şiddet $I=0,1$ (KNO_3)' de, havalandırılmış ve asetat tamponlu sekiz farklı kimyasal yapıda amino asit (alanin, glisin, aspartik asit, asparajin, glutamik asit, glutamin, fenilalanin ve histidin) çözeltilerinde, katalizsiz ve Cu(II) iyon katalizli oksidasyon kinetiği incelenmiştir. pH 4,5 değerinde bakır iyonlarının katalizör olarak kullanıldığı oksidasyonun hız eşitliği, AA'ya bağlı olarak birinci mertebeden bulundu. AA oksidasyon hız sabitleri sabit Cu(II) için amino asit konsantrasyonunun artmasıyla azaldı ve sabit bir amino asit düzeyinde Cu(II) konsantrasyonunun artmasıyla arttı. AA oksidasyon hızı üzerine amino asit ve Cu(II) iyon konsantrasyonunun etkisi, monohidrojen askorbat ve metal-iyon amino asit kelat arasında üçlü bir geçiş kompleksini içeren bir mekanizma ile açıklanabilir. Bakır-amino asit kompleksinin kararlılığı AA'nın oksidasyonunda bakırın katalitik aktivitesini inhibe etmiştir. Bu bulgular daha önce bulunan sonuçları desteklemektedir. Amino asitler besinlerde bol miktarda bulundukları için, bakır katalizli oksidasyonu önleyerek AA değerini korumada yardımcı olabilirler.

Anahtar kelimeler: Askorbik asit, amino asit, antioksidanlar, katalizli oksidasyon, Cu(II), kinetik, besin kararlılığı.

ABSTRACT

Vitamin C (ascorbic acid:AA) is an important water soluble antioxidant vitamin in human diet which participate in many biochemical reactions. Copper is trace metal found in many food and pharmaceutical products. It is very important to preserve the antioxidant values of food, that may contain naturel or added vitamin C. Free transtion metal like Cu(II), when reduced with ascorbate, may give Fenton-type reactions generating hidroxyl redicals that adversely affect the nutritional quality of food and cause tissue damage in consumers. Catalytic oxidation of AA in the presence of some amino acids cannot be followed by direct UV spectrophotometry because of some interferences, and therefore, spectrophotometric determination of remaning AA in solution was performed with the copper(II)-neocuproine reagent in amonium acetate-buffered medium via recording of absorbance at 450 nm. The kinetics of uncatalyzed and Cu(II)-ion catalyzed oxidation of AA in aereted and acetate-buffered eight amino acids with different chemical structure (alanine, glycine, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, glutamine, phenylalanine and histidine) solutions was studied at 25°C and ionic strenght: $I=0,1$ (KNO_3). The rate equation of oxidation in presence of cupric ion as catalyzed at pH 4,5 was found to be first order with respect to AA. AA oxidation rate constants decreased with increasing amino acid concantration for a fixed Cu(II), and increased with increasing Cu(II) concantration for a fixed amino acid level. The effects of amino acids and cupric ion concantrations on the oxidation rate of AA suggest a mechanism which may involve the formation of transition complex between mono hydrogen ascorbate and copper ion amino acid chelates in the form of a ternary complex. Stability of copper amino acid complex inhibited the catalytic activity of copper in AA oxidation. This finding supports previously reached conclusion. Since foods widely contain amino acids, it may help to protect their AA values by retarding copper catalyzed oxidation.

Key words: Ascorbic acid, amino acid, antioxidants, catalysed oxidation, Cu(II), kinetics, food stability.

1. GİRİŞ

C vitamini (Askorbik Asit, AA) birçok biyokimyasal reaksiyona katılan önemli bir suda çözünen antioksidan vitamindir. Kanda yeteri kadar bulununca (%0,6 – 2,5 mg) fazlası vücuttan atılır. İndirgenmiş (L-askorbik asit) ve yükseltgenmiş (dehidroaskorbik asit) olmak üzere, doğada iki şekilde bulunur. Her ikisinin de biyolojik etkisi vardır. Işığa dayanıksızdırlar, yükseltgenler, alkaliler ve bazı metaller varlığında bozunurlar. Askorbik asit, içerdiği endiol grubundan dolayı hem asidik özellik gösterir hem indirgendir. Birçok biyokimyasal çalışmalara, elektron transferi araştırma ve redoks çifti reaksiyonlarına konu olmuştur. Etkili fonksiyonlarından biri oksidasyonun hücre metabolizmasına karşı oluşturduğu zararlı etkileri azaltmaktır (Packer ve Fuchs, 1997).

AA çözeltisi, alkali ortamda hızla bozunur, asidik ortam incelemelerde tercih edilir. Birçok yiyeceğin doğal bileşenidir, yiyecek ve içeceklere vitamin desteği ve antioksidan olarak eklenir. Kararlılığı, bu ürünlerin bileşimine ve oksijen içeriğine bağlı olarak geniş ölçüde değişir (Seib ve Tolbert, 1989).

Tüm yaşayan hücrelerin esas unsuru olarak proteinler tanınır. Besinlerle hergün minimum (yetişkin insanda kg başına 1 g) miktarda proteinin organizmaya girmesi gerekir. Aksi halde bazı bozukluklar sonucu olarak yaşam mümkün olmaz. Proteinler büyük molekülü maddelerdir. Molekül ağırlıkları yaklaşık olarak 10000'den milyonlara kadar değişebilir. Protein molekülleri, yüzlerce amino asitin peptid bağlarıyla birbirine bağlanmasıyla meydana gelir. Proteinler ısı, ultraviyole ışık, asit, baz, organik çözücüler ve ağır metal iyonları gibi dış etkenlerle birçok özelliklerini kaybederler. Diğer bir deyişle çok dayanıksız maddelerdir. Proteinler hidroliz ile amino asitlere parçalanır ve organizmada da amino asitlerden sentezlenirler. Hidroliz sonucunda 20 kadar temel ve farklı amino asit serbest hale geçer. Amino asitlerin önemi proteinlerin yapı taşları olmakla bitmez. Metabolizmada çeşitli biçimlerde değişime uğrayabilirler ve vücuda özgü diğer maddeler (örneğin hemoglobin) için çıkış maddelerine dönüşebilirler (Tekman ve Öner, 1994; Telefoncu,1992).

Bakır iyonlarının canlı sistemlerdeki metabolizması çok geniş bir alana yayılmaktadır. Bakır iyonunun biyopolimerler ve fizyolojik akışkanlarla bağlanması olayının anlaşılması için, bakır iyonlarının amino asitlerle prototip bileşikleri oldukça geniş çalışılmıştır (Farrell, 1977).

Cu(II) ve Fe(III) gibi az miktardaki geçiş metal iyonları askorbik asit otoksidasyonunda katalizör olarak görev yapar. Moleküler oksijen ile Cu(II) katalizli AA oksidasyonu yiyecek ve ilaç endüstrisinde biyokimyasal öneminden dolayı, kapsamlı olarak çalışılmıştır (Khan ve Martell, 1967a;1967b; Ogata vd., 1968). Cu(II) komplekslerinin katalitik aktiviteleri, ligandın yapısı ve metal iyonunun koordinasyon geometrisine bağlıdır (Davies, 1992). Cu(II) ve

Fe(III)'ün EDTA, CDTA, NTA, sitrat, asetat, tartarat, ftalat, bishistidin ve glutatyon gibi ligandlarla kompleks oluşturması katalitik aktiviteyi değiştirir (Khan ve Martell, 1967a;1967b; şahbaz ve Somer, 1993; İmer vd., 2003; Scarpa vd., 1996; Ohta vd., 2000). Khan ve Martell, AA oksidasyonunda bakır ve demir kelatının kararlılığının katalitik aktiflikle lineer olduğunu göstermiştir (Khan ve Martell, 1967b).

Amino asitler yanında Cu(II) katalizli AA oksidasyonunu çalışmak önemli gözükmektedir. Üstelik bakır ve askorbatın bulunduğu sistemi stabilizeştirme önemlidir. Askorbik asit, geçiş metal iyonlarının redoks döngüsü için potansiyel bir indirgeyici ajandır ve bu aktivite bazı oksidasyon sistemlerde lipit peroksidasyonunu yönetir (Tribble vd., 1995).

Bu çalışmanın amacı, AA'nın katalizsiz ve Cu(II) katalizli oksidasyonuna, farklı kimyasal yapıdaki amino asitlerin (alanin, asparajin, aspartik asit, fenilalanin, glisin, glutamik asit, glutamin, histidin) etkisinin, havalandırılmış asetat tamponlu zltide ($\text{pH} = 4,5$) , 25°C de ve $I = 0,1 \text{ M KNO}_3$ 'da, bakır(II)-neocuproine reaktifi ile spektrofotometrik (Güçlü, 2005) olarak incelemektir.

Çeşitli antioksidanlarla (flavonoid, E vitamini, β -karoten, ürik asit ve bilirubin içeren) AA miktarını bulmak için de, bakır(II)-neocuproine yöntemi değiştirilerek, toplam antioksidan kapasitesi, CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity), yöntemi geliştirilmiştir (Apak vd., 2004,2005).

2. GENEL BÖLÜM

2.1 Askorbik Asit

2.1.1 Tarihçesi ve Özellikleri

Askorbik asit kimyasal olarak tanınmadan önce hastalıkla ilişkisi bilinmekteydi. Askorbik asit yetersizliğine bağlı skorbüt hastalığını, Hipokrates M.Ö. 450 yıllarında diş etlerinin kangreni, diş kaybı ve askerlerinin ayaklarında şiddetli ağrılar gibi belirtilerle tanımlamıştır. Daha sonra İskoçyalı bir doktor olan James Lind 1753'te skorbüte tutulan gemicileri limon suyuyla iyileştirdiğine dair deneme ve gözlemlerini yayınlamıştır (Baysal,1984).

Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlamış ve daha sonra araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddelerinin, özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır. 1912 yılında C. Funk adlı bir kimyacı skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koymuş ve bu maddeye "antiskorbutik vitamin" adını vermiş ve 1920'de Drummond antiskorbutik vitamin için "Vitamin C" adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918-1919), limondaki askorbik asiti izole ederek, bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini saptamışlardır. Zilva bu çalışmaları esnasında 2,6-diklorofenol-indofenolün, (2-6-DCPIP), C vitamini çözeltisi tarafından indirgeniğini bulmuştur (Othmer,1955).

Zilva çalışmalarını devam ettirirken 1928 yılında "Szent-Györgyi" adlı bir kimyacı askorbik asidi bitki ve hayvanların böbreküstü bezlerinden ayırmış, ancak 1932 yılına kadar devam ettirdiği bu çalışmalar esnasında bu maddenin antiskorbüt vitamin olduğunu anlayamamış ve daha sonra King yayınında bu maddeye heksuronik asit adını vermiştir.

Bundan sonra birçok bağımsız araştırmacı özellikle Tillmans, Vedder, Nelson, Haris ve Von Vragha vitaminin kimliğini saptamışlar ve glikozdan sentezini gerçekleştirmişlerdir (Othmer,1955).

C vitamininin kimyasal yapısı Hawort ve arkadaşları tarafından 1933'te aydınlatılmıştır, aynı senede Hawort Richest Reichstein tarafından bu vitaminin sentezi yapılarak askorbik asit adı verilmiştir. C vitamini sentezi ve kortizonu buluşları üzerine 1950 yılında kendisine Nobel Tıp ödülü verilmiştir (Ersöz,2002)

Maymun, kobay ve insan vücutlarında askorbik asit sentezlenemez. Fakat diğer cinsler, örneğin köpek, tavuk ve fare vücutlarında askorbik asit sentezleyebilirler.

Askorbik asit (Vitamin C)'e tarihsel gelişimi sırasında çeşitli isimler verilmiştir (The Merck Index, 1989).

Cevitamik asit

Antiskorbütik asit

Heksuronik asit

Skorbü-C

Redoxon

Diğer kimyasal isimleri;

L-askorbik asit

L-3-ketotreohexuronik asit lakton

3-okso-L-gulokofuranolakton (enol şeklinde)

2.1.2 Fizikokimyasal Özellikler

2.1.2.1 Fiziksel Özellikleri ve Molekül Yapısı

Askorbik asit renksiz, çok hafif ve özel bir kokulu beyaz bir kimyasal maddedir. Ekşi tatlı olup, asit reaksiyonu verir. 189-192 °C' de bozunmaya uğrar ve erir.

Askorbik asit molekülünde C-4 ve C-5'de iki asimetrik karbon atomu bulunur. Optikçe aktiftir, polarize ışığı sağa çevirir. L-askorbik asit dışında, D-askorbik asit, D-izoaskorbik asit ve L-izoaskorbik asit olmak üzere üç tane stereoizomeri vardır. Bu üç izomerin antiskorbutik aktiviteleri yoktur.

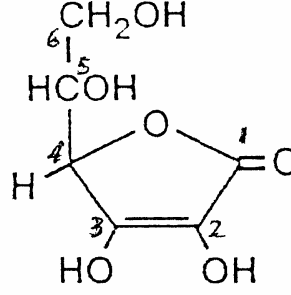
Çevirme açısı;

Sulu çözeltileri için $[\alpha]^{25}_D = +20,5^\circ - +21,5^\circ (c=1)$

Metanoldeki çözeltileri için $[\alpha]^{23}_D = +48^\circ (c=1)$ (The Merck Index, 1989).

Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir. Bir gram askorbik asit 3 mL suda, 30 mL alkolde, 50 mL mutlak alkolde ve 100 mL gliserinde çözünür. Eter, kloroform, benzen, petrol eteri, yağlar ve yağ çözücülerinde çözünmez.

Askorbik asit bir monosakkarit türevi olup yapıcı glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olup; % 40,91 karbon (C), % 4,48 hidrojen (H), % 54,5 Oksijen (O) içerir.



Şekil 2.1 Askorbik asidin molekül şekli

Şekilde molekül şekli gösterilen L-askorbik asit 5 üyeli heterosiklik halka içinde bir endiol grubu bulunan dibazik bir asittir. Bu yapı asit-baz davranışı sergiler ve ilk olarak 3. hidroksil grubu iyonlaşır. Askorbik asit, konjuge olmuş karbonil ve endiol sistemi üzerinden π elektronlarının delokalizasyonu ile stabilleşir (Davies,1992).

Lakton halkası genellikle planar kabul edilir. Askorbik asidin kimyasal ve fiziksel özellikleri bu yapıya bağlıdır. Askorbik asidin oksidasyon ürünü olan dehidroaskorbik asit x-ışını analizi ile dimer olarak belirlenmiştir. Elektrokimyasal incelemeler askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin bir redoks çift oluşturduğunu göstermiştir (Packer ve Fuchs,1997).

2.1.2.2 Kimyasal Özellikleri

L(+) askorbik asit oldukça kuvvetli bir asittir, %1 derişimdeki çözeltisinin pH'ı 2,8, %10'luk çözeltisinin ki yaklaşık 2'dir. Asit niteliği 3. karbondaki enol hidroksilinden ileri gelir.

L(+) askorbik asit karbonat ve bikarbonatlardan karbondioksiti açığa çıkarır, birçok metal katyonları, örneğin sodyum ve kalsiyum iyonları ile nötral, suda çözünen kristalsi monometal tuzları verir ve tuzlarda da lakton halkası bozulmamıştır (Keskin,1987).

	Kapalı formülü	Molekül ağırlığı
Askorbik asit	$C_6H_8O_6$	176,13 g/mol
Sodyum tuzu	$C_6H_7O_6Na$	198,10 g/mol
Kalsiyum tuzu	$C_{12}H_{14}CaO_{12}.2H_2O$	426,35 g/mol

Sodyum askorbat, $C_6H_7O_6Na$ ve kalsiyum askorbat, $(C_6H_7O_6)_2Ca$, askorbik asit gibi terapötik amaçlı kullanılmaktadır. Askorbik asidin diğer önemli bir türevi ise askorbil palmitat, $C_{22}H_{38}O_7$, askorbik asidin 6. karbon atomundaki hidroksil grubunun palmitik asitle esterleşmesi sonucu oluşur. Bu da diğer tuzlarda olduğu gibi askorbik asit yetmezliği durumunda kullanılır.

Sekil 2.2 Askorbik asit-dehidroaskorbik asit redoks reaksiyonu.

2. ve 3. karbon atomlarındaki endiol grupları oksidasyona uğrar, 2 H atomunu vererek diketo haline dönüşüp dehidroaskorbikaside yükseltgenir ve dehidroaskorbik asit de askorbik aside indirgenebilir. Buna göre dehidroaskorbik asit ile askorbik asit bir redoks sistemi oluşturur. Dehidroaskorbik asit kolayca askorbik asite çevrildiğinden C vitamini gibi etki eder. Dehidroaskorbik asit alkali çözeltilerde dayanıksız olup lakton halkasının açılmasıyla hidrolize uğrar ve biyolojik olarak etkisiz olan 2,3-diokso-L-gulonik asit oluşur. Vücutta bu tekrar laktona dönüştürülemez, parçalanmasıyla oksalik asit meydana gelir.

Askorbik asidin oksijenle reaksiyonu katalizör yokken yavaştır ve hızı pH'ye bağlıdır. Asidik çözeltilerde yavaş, alkali çözeltilerde daha hızlıdır. Askorbat, sulu çözeltide pH 6,6-9,6 aralığında oksijenle reaksiyona girdiğinde, askorbat radikalinin kararlı hal konsantrasyonu olduğu elektron spin çalışmalarıyla gösterilmiştir. Bazı enzimler reaksiyonun inhibe edilmesi bilgilerinden, hidrojen peroksit olduğu belirtilmiştir (Packer ve Fuchs, 1997).

Metal iyonları, askorbik asidin dehidroaskorbik aside veya dehidroaskorbik asidin 2,3-diketogulonik aside ve diğer oksidasyon ürünlerine oksidasyonunu arttırır. Burada Cu(II) iyonu çok etkilidir. Askorbik asidin Cu(II) iyonu ile oksidasyonundan oluşan bir ara kompleks spektrofotometrik olarak kanıtlanmıştır. Reaksiyon için askorbik asit, bakır ve oksijen arasında üçlü bir kompleks içeren bir mekanizma önerilmiştir. Askorbik asidin oksidasyon hızı; askorbik aside, moleküler oksijene ve metal iyonuna göre birinci derecedendir. Askorbik asidin geçiş metali ve kompleksleriyle birinci oksidasyon adımı, askorbat radikalini oluşturur. Bu askorbat radikali, diğer metal iyonuyla gerekli stokiometrik karakteri vermek için reaksiyona girebilir. Oksidasyon esnasında geçiş metal iyonu da hızla kendi kendine indirgenir (Packer ve Fuchs, 1997).

Askorbik asidin enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu birçok bozunma ürünü oluşmasına sebep olur. Askorbik asidin bozunma hızı; askorbik asit konsantrasyonu, sıcaklık, pH, ışık ve metal iyonları varlığına bağlıdır. Askorbik asidin sulu çözeltisi ısıtıldığı zaman oluşan başlıca ürünler; dehidroaskorbik asit, 2-3-diketogulonik asit, threonik asit ve oksalik asittir (Packer ve Fuchs, 1997).

Askorbik asit, metal iyonları ve metal kompleksler tarafından oksitlenir ve metal iyonları indirgenir (Seib ve Tolbert, 1989). Örneğin; Cu(II), Cu(I)'e; Fe(III), Fe(II)'e indirgenir. Cr(VI) askorbik asitle; Cr(V), Cr(IV) ve karbona dayanan radikal ürünler verir.

Askorbik asit 2- ve 3- hidroksil gruplarının iki oksijen atomları koordinasyonu ile kompleksler oluşturabilir.

Askorbik asit indirgenebilen Cu(II) ve Fe(III) gibi birçok metal iyonu ile kompleksler oluşturur. Metal ve askorbik asit arasındaki bağlar, benzer kelat ligandlarıyla karşılaştırıldığında, beklenilenden daha zayıftır.

Bazı askorbik asit komplekslerinin kristalleri tamamen anaerobik koşullarda elde edilmiş, fakat bu komplekslerin yapıları tam olarak bilinmemektedir.

AA'nın ultraviyole absorpsiyonu pH ve çözücüye bağlıdır. Kuvvetli asit çözeltisinde askorbik asit, UV ışıktaki yaklaşık 245 nm'de ($\epsilon = 11000$) absorpsiyon gösterir. Bu değer nötral çözeltide 265 nm'ye ($\epsilon = 17000$) kayar ve pH 14'te yaklaşık 300 nm'dir (Fung ve Luk, 1985).

AA, metanolde 244 nm, etanolde 245 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir.

AA'nın IR spektrumunda (KBr disk ile) 3510, 3405, 3306 cm^{-1} alt bandı; 1755, 1670 cm^{-1} 'de C = O; 110, 1025 cm^{-1} 'de C – O – C bandları görülür.

AA'nın oksidoredüksiyon potansiyeli; pH = 5'te $E_0 = 0,127$ voltur (The Merck Index, 1989).

2.1.3 Farmakolojik Etkisi

Besinlerdeki askorbik asit vücuda alındıktan birkaç saat sonra ince bağırsaktan kana emilir. 100 mg ve daha az vitamin alındığında bunun %80-90'ının emildiği belirtilmiştir. Kandaki düzeyi kısa süre içinde artar, kan dolaşımı ile dokulara taşınır ve fazlası idrar ile dışarı atılır. Gereğinden fazla alınan askorbik asidin fazlası monosakkaritlerde olduğu gibi karbondioksit ve suya okside olur (Baysal, 1984).

Lökositlerin askorbik asit içeriğinin ölçülmesi, bu vitamin eksikliğinin teşhisi ve izlenmesi için test yöntemi olarak kullanılır. Kanda %0,01 kadar askorbik asit bulunur. Fazlasının toksik etkisi yoktur, ancak gastroentestinal sistem şikâyetleri olanlarda mide ekşimesi ve benzeri sakıncaları olabilir. C vitamininin büyük bir kısmı askorbik asit şeklinde ve az bir kısmı da oksalata çevrilerek vücuttan atılır. Daha az kısmı ise dehidroaskorbik asit şeklindedir. İhtiyaç fazlası C vitamini alındığında böbreklerden oksalat şeklinde atılırken Ca-oksalat tuzlarının teşekkülüne yol açabilir. Ayrıca bu vitaminin fazla alınması bazı ilaçların ve B₁₂ vitamininin absorpsiyonunu bozabilir (Kayaalp, 1989).

Askorbik asidin vücutta bazı biyokimyasal işlevleri vardır. Askorbik asidin işlevleri olduğu düşünülen bazı reaksiyonlar aşağıda sıralanmıştır (Ottaway, 1993).

- Hidrojen / elektron transferi – redoks sistemi olarak
- Kollajen sentezinde pirolin ve lizinin hidroksilasyonu
- Karnitin biyosentezi

- L-tirosin ve katekolamin oluşumu metabolizması
- İmmünolojik ve antibakteriyel aktivite
- Demir metabolizması, özellikle demir absorpsiyonu
- Prostaglandin sentezinin modifikasyonu
- Histamin birikiminin önlenmesi
- Serbest radikal zararına karşı koruma

Askorbik asidin bağ dokularından olan kollajen sentezinde görev aldığı bulunmuştur. Askorbik asit eksikliğinde, hücreler arasında kollajen iplikçiklerinin kaybolması, kanamalar ve kemik hasarı ile kendini gösteren skorbüt hastalığı görülür. Yaraların iyileşmesi gecikir, hastalıklara karşı direnç kırılır. Anemi gelişebilir. Skorbüt tedavi edilmediği takdirde ölüme kadar gidebilir (Baysal, 1984).

Askorbik asidin kan damarlarının kuvvetlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Vitamin yetersizliğinde kan damarlarının gücü azalmakta ve hafif darbelerde kanamalar görülmektedir.

Enfeksiyonlar vücut doku ve sıvılarındaki askorbik asit miktarını azaltmaktadır. Enfeksiyonlarda beyaz kan hücrelerinde askorbik asit düzeyi düştüğünde bağışıklığın zayıfladığı sanılmaktadır. Normal askorbik asit gereksiniminin karşılanması ile dokulardaki miktarın yeterli düzeyde tutulabileceği rapor edilmiştir. Şiddetli enfeksiyon ve bakteri zehirlenmelerinde askorbik asit miktarının artırılması gerektiği düşünülmektedir (Pauling, 1971).

Askorbik asidin steroid hormonlarının sentezinde görev aldığı bildirilmiştir. Askorbik asit yetersizliğinde, adrenalin bezi büyüme göstermektedir. Askorbik asidin epinefrin ile yara ve iltihaplanmaya karşı etkinlik gösteren steroidlerin sentezinde rolü olduğu bildirilmiştir (Baysal, 1984).

Askorbik asit diğer bazı besin öğelerinin vücutta kullanılması için de yardımcıdır. Demir, kalsiyum, B vitaminlerinden tiamin, riboflavin, folik asit, pantotenik asit, A ve E vitaminlerinin vücutta daha elverişli olarak kullanılmalarında etkili olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanında askorbik asit alımının, bağırsaklarda asitliği artırarak, B12 vitamininin emilimini azalttığı da bildirilmiştir. Folik asidin, etkin şekli olan, tetrahidrofolik aside dönüşümü askorbik asidin yardımı ile olmaktadır (Baysal, 1984).

Birleşmiş Milletler, FAO ve WHO teşkilatlarının ortak komisyonunun günlük C vitamini miktar olarak tavsiyeleri şöyledir:

- 12 yaşından küçükler 20 mg
- 12 yaş ve daha büyükler 30 mg
- Hamile kadınlar 50 mg
- Emziren kadınlar 50 mg

2.1.4 Doğadaki Besinlerde C Vitamini Oluşumu ve Karahlığı

Askorbik asit yiyeceklerde ilk olarak birada, daha sonra ette koruyucu olarak kullanılmıştır. 1950’li yılların sonlarına yaklaşırken ekmek üretimi için kullanılan unlarda, hafif içkilerde ve şaraplarda kullanılmıştır. Ayrıca, özellikle meşrubatlarda antioksidan özelliğinden yararlanarak koruyucu olarak kullanılmıştır.

Besinlerde L-askorbik asit kolayca dehidro-L-askorbik aside yükseltgenir ve bu iki yapı besinlerde muhtemelen denge halinde bulunur. Taze gıdalarda indirgenmiş hali daha fazladır, fakat pişirme, işleme ve depolama dehidro şeklinin oranını arttırır. C vitamini doğada yaygın olarak bulunur. Sebzelerde, meyvelerde ve hayvanların karaciğer ve böbrek gibi organlarında önemli miktarlarda meydana gelir. Sütte ve diğer et çeşitlerinde çok az miktarda bulunur. Bitkiler, L-askorbik asidi karbonhidratlardan hırlı bir şekilde sentezlerler. Bitkilerde C vitamini miktarı, bitkinin cinsine, olgunluğuna, yetiştiği yere, iklime, depolama ve taşıma koşullarına bağlı olarak değişir. Bol sulu meyveler önemli C vitamini kaynağı olup, en çok frenk üzümü, portakal, limon ve çilekte, bundan sonra tüm meyvelerde bulunursa da elma, ananas, muz, kiraz ve erikte az bulunur. Karpuz C vitaminince fakirdir (Ottaway, 1993).

Askorbik asit yaygın olarak alkolsüz içeceklerde, meyve suyunda, özellikle turunçgil sularında, üretim sırasında meydana gelen kayıpları gidermek için kullanılır.

Yiyecek endüstrisinde kullanılan toplam C vitamininin yaklaşık yarısı sentetik olarak üretilmektedir. Bunun yanında karşılaştırılamayacak kadar küçük olarak vitamin olarak da kullanılır. Yiyeceklerin işlenmesi ya da pişirilmesi sırasında C vitamini kaybı oldukça önemlidir. Sebze ve meyvelerin pişirilmesinden sonra veya sıcak olarak saklanması sırasında da büyük C vitamini kayıpları görülmüştür. Sebzelerin işlenmesi sırasındaki C vitamini kayıpları uygulanan fiziksel işlemlere, oksijen etkisi altında kalan ürünün yüzey alanına bağlıdır.

2.1.5 Antioksidan Özelliği

Besin bileşenlerinin bir grubu olan vitaminler bekletildikleri zaman kantitatif olarak bozunmaya başlar. Vitamin içeriğindeki azalma aşağıda belirtilen çeşitli faktörlerden etkilenir.

- Sıcaklık
- Nem
- Oksijen
- Işık
- pH
- Oksitleyici ve redükleyici maddeler
- Metal iyonları ile birlikte bulunması (örneğin demir, bakır)
- Diğer vitaminlerle birlikteliği
- Kükürt dioksit gibi diğer besin bileşenleri

Kayıplar, özellikle ısısal işlemler sırasında oluşabilmektedir. Vitaminlerin bozunmasını etkileyen faktörler ya vitaminlerin doğada oluşumu sırasında, ya da besinlere ilave edilen sentetik kaynaklardan meydana gelmektedir.

Vitaminler, besin maddelerinin üretim, depolama ve hazırlanması sırasında çok sayıda fiziksel ve kimyasal etkenlere maruz kalırlar.

C vitamininin dış etkenlere karşı (ısı, ışık, oksijen ve pH) duyarlılığı şöyledir; (Ottaway, 1993).

Isı	kararsız
Işık	kararsız
Oksijen	kararsız
pH<7	kararlı
pH≥7	kararsız

Askorbik asidin özelliklerinden birisi ve en önemlisi de antioksidan olmasıdır. Antioksidan madde aktivasyon enerjisini kabul eder, fakat bu enerjiyi başka moleküllere aktarmaz. Bu şekilde bir antioksidan molekülünün araya girmesiyle otokside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulur, yani yükseltgenme yavaşlamış olur.

Antioksidanlar yağların otoksidasyonunu yavaşlatan maddelerdir. Antioksidanların kendileri de genellikle yükseltgenebilen maddeler olup, zincirleme reaksiyonu kopartarak bozunurlar. Onun için antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi bu olaydan

koruyabilir ve tüm antioksidan molekülleri kaybolunca madde de hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder.

Antioksidanların etki mekanizması hakkında bu zincirleme reaksiyon teorisinden başka “seçimli yükseltgenme” teorisi vardır. Buna göre katılan maddeler, korumak istediği maddeden önce oksijeni tutarak onu bundan koruyabilir.

Askorbik asit ayrıca redoks özelliği olan bir maddedir.



Askorbat indirgen bir reaktif iken onun serbest radikali reaksiyona girmez, askorbik asit ve dehidroaskorbik aside dönüşür.



Askorbik asidin serbest radikallere karşı biyolojik koruma özelliği, radikallerle reaksiyona girmesi ve kendisinin oluşturduğu radikalın kararlı oluşundan kaynaklanmaktadır. Askorbik asit radikallerle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girerek kendisi kararlı bir radikal oluşturur ve oluşan radikaller kendi ile reaksiyona girer. Daha önceki çalışmalar göstermiştir ki, askorbat serbest radikali redoks tepkimeleri sonucunda tek üründür. Çalışmalar sonucunda askorbatın iyi bir redüktan olduğu ve onun serbest radikallerinin çok kararlı olduğu ve aynı zamanda toksik olmadığı anlaşılmıştır.

Vitamin C antioksidan fonksiyonu nedeni ile bazı hormonların (adrenalin) oksidatif olarak bozunmalarına engel olur. Vücuttaki kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan veya dışarıdan sigara, alkol veya kirli hava vs. ile alınan zararlı maddeleri (serbest radikalleri) nötralize eder (etkisiz hale getirir). Besinlerin üretimindeki değişik ve yapay işlemler nedeniyle de vücuda serbest radikal alımı artmakta ve bunların reaksiyonu sonucu oluşan toksik maddeler vücutta birikir hale gelmektedir. Vücudumuzda biriken toksinleri atmak ve onların zararlı etkilerinden

kurtulmak için antioksidan besinlerin alımını arttırmak gerekir. Böylece serbest radikallerin meydana getirdiği hücre tahribatı engellenmiş olur.

Serbest radikaller vücuttaki hücrelere saldırır ve tahrip eder. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşur ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar.

Serbest radikaller, hücre duvarındaki yağlardan birine saldırdığında, yağ molekülleri değişime uğrar. Hücre zarının yapısı ve fonksiyonları zarara uğrar. Hücre zarı, gıdaların, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz, harcanan ürünlerin atılmasını düzenleyemez.

Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir.

Serbest radikaller aynı zamanda hücrelerin genetik kodunu içinde taşıyan, hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan DNA'ya da etki eder. Hücrelerin genetik kodu değiştiğinde ölebilirler. Çünkü ona hücreden gelen mesajı uzun süreli olarak okuyamazlar. Aşırı hücre bölünmesine ve kansere sebep olabilirler.

Askorbik asit kanseri önlemek için kullanıldığı gibi bu hastalığa yakalanmış hastalar için de tavsiye edilmektedir. 1930'lu yıllarda askorbik asidin bulunması ile birçok klinik çalışmalar ve deneyler kanserle arasındaki bağlantıyı kurmuştur. Askorbik asidin kanser tedavisinde alım miktarı için birçok tartışmalar olmuştur.

Kanser ve günlük terapiler ciddi biyokimyasal zararlar, kanserli vücuttaki askorbik asidi yok etmektedir. Kemoterapi esnasında hasta birçok toksik maddelerle karşı karşıyadır. Kanser hastası olan kişilerde günlük 4g askorbik asidin olumlu etkisi görülmüştür.

1969 yılında, akciğer kanserine sebep olan sigara ve diğer etkenlerin günlük olarak alınan 1,5g askorbik asit sayesinde önlenebildiği ileri sürülmüştür.

Askorbik asidin, korunmuş etlerde ve bazı içme sularında bulunan, kansere sebep olan N-nitrozo bileşiklerinin oluşumunu önlediği bulunmuştur.

Ayrıca kesildikten sonra hava etkisine bırakılan meyve ve sebzelerin normal renklerini bir süre için korumaları bu vitaminin antioksidan etkisinden ileri gelmektedir. C vitamininin bu özelliğinden faydalanılarak birçok maddenin bozunması önlenmiştir (Ersöz, 2002).

2.1.6 Tanınma ve Miktar Tayini Yöntemleri

C vitamini basit ve karmaşık şekillerde prensip olarak aynı yöntemlerle tanınır. Belirlemede oksidoredüksiyon yöntemi veya karakteristik renklendirilmiş türevlerden yararlanılır.

Kimyasal reaksiyonlar bütün endiol gruplarını kapsadığından askorbik aside özgü olmayıp çoğunlukla karbonil endiollerinin analizinde de uygulanır.

Askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin yiyeceklerdeki ve biyolojik maddelerdeki tayininde kullanılan, avantajları ve dezavantajları olan, değişik konsantrasyon düzeylerinde uygulanan birçok yöntemi bulunmaktadır.

Askorbik asit içeren meyve sularının, sebzelerin, hayvansal ürünlerin çok kullanılması nedeniyle AA tayini için değişik analitik teknikler geliştirilmiştir. Bunlar; titrasyon, spektrofotometri (renkli reaktif ilave edilmiş veya edilmemiş), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), çeşitli elektroanalitik teknikler, enzimatik yöntemler ve birkaç tekniğin bir arada kullanıldığı yöntemlerdir (Fung ve Luk, 1985).

Yöntemler dehidroaskorbik asit, hidroaskorbik asit yada toplam askorbik asit miktarlarının ölçümlerine dayanmaktadır. Analitik tayin yöntemleri vitaminin oksidasyon – redüksiyon özelliğine dayanmaktadır. Burada askorbik asidin kendisi veya askorbik asidin yükseltgenmiş şekli olan dehidroaskorbik asit miktarı saptanır.

Askorbik asit tayini için düzenlenmiş yöntemlerden biri titrasyondur. Titrasyon için kullanılan çeşitli reaktifler bulunmaktadır. Oksidometrik titrasyonda en çok uygulanan indirgeme özelliği bulunan 2,6-diklorofenol-indofenol çözeltisidir. Diğer, 2,4-dinitrofenilhidrazin ile kolorimetrik yöntemdir. Bu kolorimetrik yöntemde, askorbik asit dehidroaskorbik aside oksitlendikten sonra, dehidroaskorbik asit 2,4-dinitrofenilhidrazin ile bir hidrazon türevi oluşturur. Bu türev daha sonra kolorimetrik olarak ölçülür. Diğer, 2,2-dipiridil kolorimetrik yöntemdir. Yöntemin temeli Fe(III)' ü, Fe(II)' e indirgemesidir. Burada Fe(II) ürünleri 2,2-dipiridil ile bir kompleks oluşturur ve bu kompleks kolorimetrik olarak ölçülür (Packer ve Fuchs, 1997).

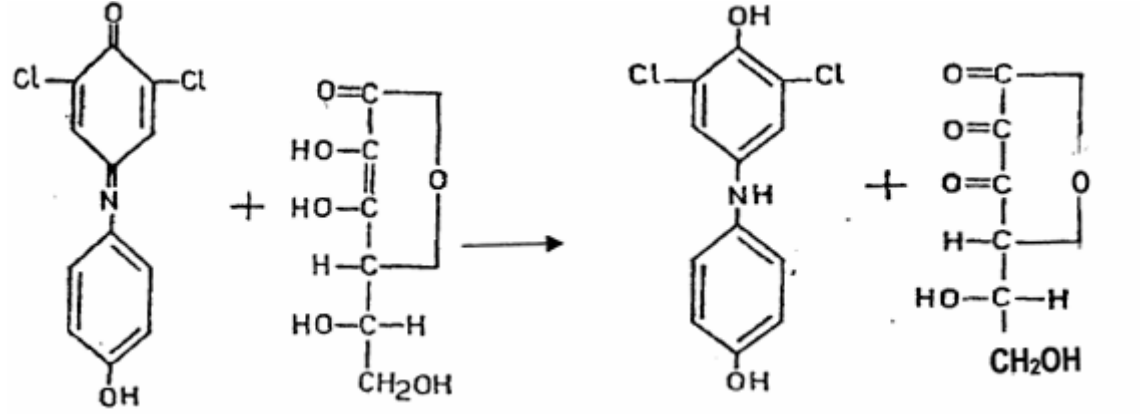
Besinlerde ve meyve sularında ilk kez tayini 2,6-diklorofenol-indofenol ile titrimetrik olarak yapılmıştır. Yöntemin ilkesi, bir redoks indikatörü olan 2,6-DCPIP' nin indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Malclver, 1998). 2,6-DCPIP nötral ve alkali çözeltide mavi, asit çözeltide kırmızı, indirgenmiş şekilde ise renksizdir. Askorbik asit, ayarlanmış bir 2,6-DCPIP çözeltisi ile asitli ortamda doğrudan doğruya titre edilir. Bu boyar madde aynı zamanda belirteç görevini görür. Bu reaksiyon sırasında 2,6-DCPIP renksiz löko türevine indirgenir, askorbik asit de dehidroaskorbik aside dönüşür. Bitiş noktasında indirgenmemiş boyar madde fazlası, asitli çözeltide gül pembe renk verir.

Yöntem bugün için standart analiz yöntemi olmakla beraber bazı güçlüklerle karşılaşılır. Bu güçlükler, renkli örneklerdeki indikatör renginin dönüm noktasında kolay tespit edilememesi

ve bazı örneklerde tayini etkileyen başka yükseltgen maddelerin bulunmasıdır. Ancak bu gibi durumlarda gerekli önlemler alınabilmektedir.

Ayrıca, 2,6-DCPIP' nin askorbik asitle verdiği pembe renkli kompleksin görünür bölgede, 520-540 nm' deki absorbansının kolorimetrik ölçümünden yararlanılarak miktar tayini yapılmaktadır.

2,6-DCPIP' nin askorbik asit ile reaksiyonu aşağıda görülmektedir (Haddad, 1977).



2,6-diklorofenol-indofenol
(alkali ortamda mavi,
Asitli ortamda kırmızı)

Askorbik asit

İndirgenmiş belirteç
(löko türevi, renksiz)

Dehidroaskorbik asit

Şekil 2.3 Askorbik asidin 2,6-diklorofenol-indofenol ile reaksiyonu

Askorbik asidin titrimetrik tayininde kullanılan diğer bir reaktif N-bromosüksinimidtir. Titrasyon sırasında askorbik asit dehidroaskorbik aside yükseltgenir. Yöntem NBS' in fazlasının, ortamda bulunan potasyum iyodürden açığa çıkan iyodun nişasta ile mavi renk vermesine dayanır (Haddad, 1977).

Florimetrik yöntem askorbik asidin floresans kompleks oluşumuyla tayinine dayanan spesifik bir yöntemdir. Askorbik asit kompleksinin floresansı spektrofotometrik olarak ölçülür (Packer ve Fuchs, 1997).

Toplam C vitamini yani askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin birlikte belirlenmesi için geliştirilmiş standart analiz yöntemine göre (MacIver, 1998), önce askorbik asit uygun bir oksidasyon reaktifi ile dehidroaskorbik aside (DHAA) dönüştürülür. Bu yöntem, o-fenilendiaminin DHAA' daki cis hidroksil gruplarıyla birleşerek floresans kinoksalin türevi oluşturmasına dayanır. Örnekler metafosforik-asetik asit çözeltisiyle ekstrakte edilir, aktif kömür (NORİT) kullanılır ve askorbik asit dehidroaskorbik aside yükseltgenir. Daha sonra o-fenilendiamin katılarak renkli çözeltilerinin florimetrik ölçümü yapılır. Aynı anda aynı şekilde hazırlanan standartlarla karşılaştırılarak C vitamini miktarı belirlenir.

Elektroanalitik yöntemlerden polarografik yöntem askorbik asit tayininde kullanılmaktadır. Askorbik asit, asidik ortamda ($\text{pH} = 2,5 - 6,0$) yarıdalga potansiyel aralığı $+170$ ile $+20$ mV arasında değişen sitrat tamponunda iyi tanımlanan anodik akım verir. Bu anodik akımın dalga yüksekliğinden konsantrasyonu bulunur (Şahbaz ve Somer, 1992). Kolorimetride ve titrimetrik yöntemlere göre, polarografide örnek hazırlama oldukça kolay olup, hazırlama ve ölçüm esnasında vitaminin oksidasyonu önlenmiş olur ve birkaç mL örnek yeterlidir.

2,6-DCPIP ile titrasyondaki renk değişimleri renkli çözeltilerde ve hızlı otomatik titrasyonlarda kullanılamaz. Böyle durumlarda kalomel elektrod ve platin elektrod kullanılarak 2,6-DCPIP çözeltisiyle potansiyometrik otomatik titrasyon kullanılır. Önce bir baseline potansiyeli (en düşük mV) tayin edilir. DCPIP çözeltisi 30 saniye aralıklarla katılarak mV değerleriyle çizilen potansiyometrik eğrinin dönüm noktasından bulunan mL sarfiyattan askorbik asit miktarı bulunur (Spaeth vd., 1962).

Askorbik asit ayrıca ince tabaka kromatografisi (TLC) ile ayrıldıktan sonra, tabakaların renklendirilmesi ve bunu takiben renkli lekelerin elüe edildikten sonra kolorimetrik olarak kantitatif tayinleri yapıldığı gibi, doğrudan tabakadaki lekelerin intensitelerinin densitometre ile okunarak da tayinleri yapılabilmektedir (Stahl, 1969).

UV, elektrokimyasal ve florimetrik dedektörlere ilâveten kütle spektrometresi de kullanılır. Kütle spektrometresi kullanılarak reaksiyon türevi kinetiğinden yararlanarak dehidroaskorbik asit ölçülür. Diğer kütle spektrometre metodu ise, izotop oranı tekniğidir. Bu metotta, bilinen bir miktardaki C^{13} örneğe ilâve edilir ve örnekteki askorbik asit miktarı hesaplanır, bu sonuç ve ilâve edilen C^{13} miktarı karşılaştırılır (Packer ve Fuchs, 1997).

Gelişen analiz yöntemleri ve enstrümental analizin yaygın olarak kullanılmasıyla günümüzde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC) gibi modern cihazlarla kalitatif ve kantitatif C vitamini analizi yapılabilmektedir. Biyolojik sıvı ve dokuların asit içeriğini ölçmek için elektrokimyasal dedektör uygundur. Bu askorbik asidin oksidasyon ve redüksiyon özelliğine dayanarak geliştirilmiştir. Kromatografik sistemlerin çoğu askorbik asit ve dehidroaskorbik asidin olduğu kadar bunların izomer ve türevlerinin de simültane ölçülmesi için dizayn edilmiştir. Dehidroaskorbik asidi ölçmek için önce bir indirgeme reaktifi ile askorbik aside indirgenir. Kromatografik ayırma ve elektrokimyasal dedektörlerin seçicilik ve duyarlılığı nedeniyle bu yöntem UV dedektöründen daha büyük seçicilik ve duyarlılık sağlar. UV dedektör, farmasotik preparatlarda askorbik asit tayini için kullanılabilir (Packer ve Fuchs, 1997).

Nelson 1973' te askorbik asidi diğer gıda katkı maddelerinden HPLC ile ayırmayı başarmıştır. Bu yöntemle pek çok çalışma yayınlanmıştır. Yayınlanan bazı çalışmalarda sadece askorbik asit belirlenirken, bazılarında ise askorbik asit ve dehidroaskorbik asit birlikte belirlenebilmektedir. Askorbik asidin güçlü bir UV absorbans bandı iyi bir duyarlılıkla kolayca belirlenebilir, ancak dehidroaskorbik asidin çok zayıf bir absorbans bandı olması nedeniyle HPLC uygulanmadan önce askorbik aside indirgenmesi daha uygundur (Ottaway, 1993).

Kromatografik yöntem pahalı araç gereç gerektirmekte ve kullanılan kişi tarafından büyük dikkat istemektedir. Küçük endüstri laboratuvarlarında günde birkaç tane analiz yapıldığı için tercih edilmemektedir.

Spektrofotometrik yöntem ise, aletsel bir metot olarak endüstri laboratuvarlarında askorbik asidin tayini için tercih edilmektedir. Çeşitli renk veren reaktifler kullanılmaktadır. Bunlar, amonyum molibdat, 2,4-dinitrofenil-hidrazin, ortofenilendiamin ferrozindir. Ortamda başka renkli madde varsa girişim yapabilir ve oluşabilecek girişimleri önlemek için bir ön işlem gerekebilir. Direkt UV spektrofotometresi askorbik asit tayini için basit ve hızlı bir yöntemdir (Lau vd., 1987).

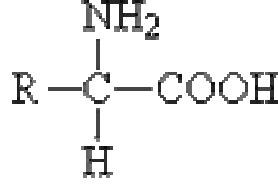
2.2 Amino Asitler

2.2.1 Genel Özellikleri

Amino asitler proteinlerin temel yapısal üniteleridir. Amino asitlerin polipeptit yapısında belirli bir düzen içerisinde bulunması, proteinlerin üç boyutlu yapısını belirlemektedir.

1806 yılında kuşkonmaz bitkisi (asparagus) hücre ekstratlarından ilk elde edilen amino asit asparajindir. 1820 yılında jelatin proteini hidrolize edildikten sonra amino asitlerin en basiti olan ve tatlımsı bir tada sahip olduğu için glisin adı verilen amino asit H.Braconnot tarafından izole edilmiştir. 1938 yılında threonin amino asiti W.C.Rose tarafından keşfedilmiştir.

Doğada yüzlerce amino asit bulunmasına rağmen, genellikle bunlardan sadece 20 tanesi protein yapısında bulunur. Protein yapısında bulunan 20 amino asitin hepsi ortak bir yapıya sahiptir. Bütün amino asitler aynı karbona bağlı bir hidrojen, karboksil (-COOH) ve bir de amino (NH₂) grubuna sahiptirler. Onlar yalnız R grubu yada yan zincir adı verilen kısımları sayesinde değişik yapılara, farklı elektrik yüküne ve suda değişik oranlarda çözünürlüğe sahiptirler. Amino asitlerin genel molekül yapısı şekil 2.4'te verilmiştir.

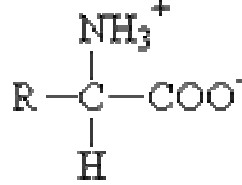


Şekil 2.4 Amino asitlerin genel molekül şekli

Amino asitlerde amino grubu α -karbonuna bağlı olduğu için bütün amino asitlere α -amino asit adı verilmektedir. Glisin istisna tutulacak olursa geriye kalan diğer 19 amino asitteki α -karbon atomu asimetrik bir karbon atomudur. Bütün amino asitler optik bakımdan aktiftirler, polarimetrede bir düzlemde ışığı sağa veya sola saptırırlar. Polarize ışığı sağa saptıranlar dekstrorotator izomerlerdir ve “+” ile gösterilirler, sola saptıranlar levorotator izomerlerdir ve “-” ile gösterilirler. Bu amino asitlerin spesifik rotasyonudur.

Amino asitlerde α -karbonuna bağlı gruplar iki şekilde düzenlenebilirler. Bunlar birbirinin optik izomeri olan L ve D konfigürasyonlarıdır. Bileşiklerin D veya L şeklinde adlandırılmalarının optik aktiviteleri arasında bir ilgi bulunmamaktadır.

Amino asitler nötral pH daki çözeltilerde iyonşuz ve yüksüz şekillerinden ziyade dipolar iyon veya zwitterion şeklinde bulunmayı tercih ederler. Dipolar iyon şeklini aldığı zaman, amino grubuna bir proton girmiş karboksil ise dissosiyeye olmuş durumdadır.



Şekil 2.5 Dipolar iyonlu amino asit (Zwitterion Şekli)

Amino asitler proteinlerden derişik HCl ve H₂SO₄ gibi kuvvetli asitlerle veya NaOH gibi kuvvetli bazlarla hidrolize edilerek veya pepsin, tripsin, kimotripsin gibi enzimlerle hidrolize edilerek elde edilirler.

Amino asitler karışımı pH 5,5 ayarlanıp yine aynı pH da kağıt elektroforezine tabi tutulacak olursa, üç ana gruba ayrıldığı gözlenir.

1. Birinci grupta, pH 5,5 da net elektrik yükleri sıfır olan amino asitler bulunmaktadır. Bu grupta bulunan amino asitler monoamino ve monokarboksilik amino asitler olup pH 5,5 de hareket etmezler. Bu amino asitlere nötr amino asitler de denir.

2. İkinci grup amino asitler katoda hareket etmektedirler. Bu grup amino asitlerde birden fazla azot ihtiva eden grup bulunur ve net elektrik yükleri de pozitifdir. Bunlara bazik amino asitler adı verilir.

3. Üçüncü gruptaki amino asitler anoda doğru hareket ederler, birden fazla karboksil grubu ihtiva eden amino asitlerdir ve asidik amino asitler olarak adlandırılmaktadır.

Amino asitler R grubunun yapı ve özelliğine göre değişik şekilde sınıflandırılmaktadır.

Nötral Amino Asitler: Monoamino monokarboksilli amino asitlerdir. Bunlar yan zincirlerinin yapı ve özelliğine bakılarak tekrar alt sınıflanmaya tabi tutulmaktadır.

Düz Zincirli Amino Asitler: Yan zinciri düz olan amino asitler bu gruba girmektedir. Bunlar glisin, alanin, valin, leusin ve izoleusindir.

Hidroksilli Amino Asitler: Yan zincirinde hidroksil grubu ihtive eden amino asitlere hidroksilli amino asitler denir. Serin ve threonin bu grup amino asitlerdir.

Aromatik Amino Asitler: Bu grup amino asitler alanin amino asitinin metil grubuna fenil, hidroksi fenil ve indol halkasının bağlanmasıyla oluşmuşlardır.

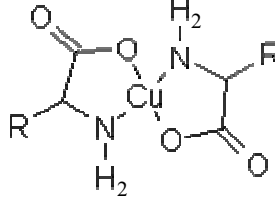
Sülfür Grubu İçeren Amino Asitler: Monoamino ve monokarboksilli amino asitlerden sistein ve methionin sülfür grubu içeren iki amino asittir. Sistin ise iki sisteinin sülfür gruplarında birbirine bağlanması ile oluşan iki amino ve iki karboksik grubu içeren bir disisteindir.

Bazik Amino Asitler: Bu amino asitlerin yan zinciri pH 7'de net pozitif yüke sahiptir. Bu amino asitlerin hepsi altı karbonludur. Bunlardan lizin epsilon amino (ϵ -NH₂) grubu ile pozitif yüke sahiptir. Arjinin guanidinium grubu ile, histidin ise imidazolium grubu ile pozitif yüke sahiptirler.

Asidik Amino Asitler: İki karboksil grubuna sahip olan amino asitlerden birincisi aspartik asit ikincisi ise glutamik asittir. Her iki amino asitte pH 6 ve 7 de tamamen iyonize olmakta ve asidik özellik göstermektedir. Bu iki amino asitin amidleri olan asparajin ve glutamin de protein yapısında bol miktarda bulunmaktadır.

Amino asitler renksiz maddeler olup, genel olarak suda çözünürler. Etil alkolde ya az çözünürler ya da hiç çözünmezler. Eter de ise hiç çözünmezler. Bakır, mangan, kobalt gibi ağır metal iyonlarıyla kelat kompleksleri teşkil ederler. Örneğin, Cu²⁺ iyonu lösinle suda çözünmeyen, glisinle suda çözünen bir kompleks verir (Tekman ve Öner, 1994).

Amino asitlerin Cu(II) ile oluşturdıkları komplekslerin genel yapısı aşağıdaki gibidir;



Şekil 2.6 Cu(II) – amino asit kompleksinin molekül şekli

Metal – ligand reaksiyonlarının özelliklerinin anlaşılabilmesi için, reaksiyonun kararlılık sabiti son derece önemlidir. Çalışmada kullanılan bazı amino asitlerin Cu(II) ile verdikleri komplekslerin kararlılık sabitleri şöyledir (Furia, 1972);

Alanin: 8,18 Aspartik Asit: 8,57 Glutamik Asit: 7,85

Glisin: 8,22 Fenilalanin: 7,74 Histidin: 10,60

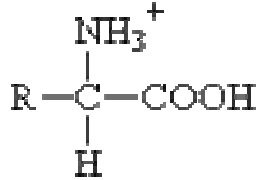
2.2.2 Amino Asitlerin Asit-Baz Özellikleri

Amino ve karboksil grubunun aynı molekülde bir arada bulunması sonucunda molekül asit veya baz olarak davranır ve amino asitler amfoteriktir. Amino asitlerde α -COOH ve α -NH₂ grupları iyonlaşabilir.



Karboksil grubunun amino grubundan bir hayli güçlü asit olmasına rağmen, yazılan bu denge reaksiyonları amino asitlerin en azından iki zayıf asit grubu içerdiğini göstermektedir. Amino ve karboksil gruplarının pK değerleri sırasıyla 9,6 ve 2,3' tür. Buna göre amino asitler üç genel formda bulunabilirler.

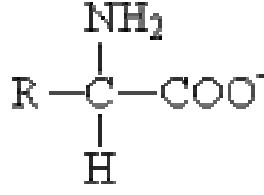
Düşük pH da amino ve karboksil grupları protonlanır ve molekül asidik yapıda bulunur.



Şekil 2.7 Amino asitlerin asidik yapısı

pH nötralliğe doğru arttırılırsa, amino asitler zwitterion hale gelirler, yani pozitif ve negatif yükleri birlikte taşırlar (şekil 2.5).

pH daha çok arttırılırsa, molekül bazik olur.



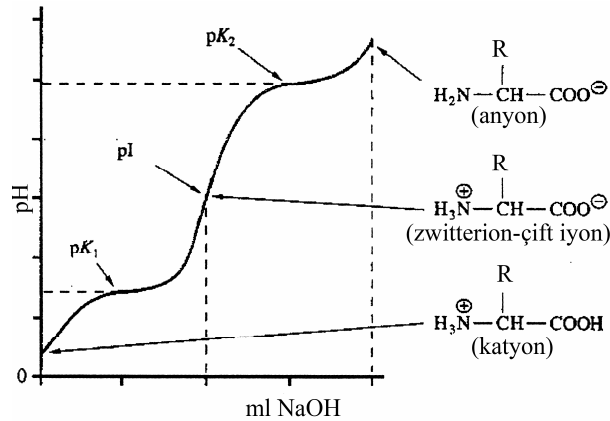
Şekil 2.8 Amino asitlerin bazik yapısı

Buna göre amino asit nötral çözeltiye katılırsa pozitif iyon, alkaliye eklenirse negatif iyon formundadır. Bu nedenle amino asitin nötral, pozitif veya negatif yüklü olması ortamın pH'ına göre değişir.

Amino asit nötral olduğu zaman pozitif ve negatif yükler eşittir. Bu durum amino asitin izoelektrik noktasında gerçekleşir ve bu haline dipolar iyon veya zwitterion denir. Asit baz kapasitelerinden dolayı zwitterionlar tampon gibidir. Böylece pH değişimlerini önler. Özellikle canlı hücrelerde, hücrenin sınırlı pH değerleri içinde işlevini yapabilmesi için amino asitlerin tamponlama özelliği son derece önemlidir.

Amino asitlerdeki karboksil, amino ve iyonlaşabilen R gruplarının asidik kuvveti, tipik organik asitlerdeki gibi asitlik sabiti K_a ile ya da çoğunlukla bunun negatif logaritması olan pK_a ile tanımlanır. Amino asit, peptit veya proteinin net yükü, sulu ortamın pH'ına bağlıdır. Bu olay herhangi bir amino asitin veya proteinin titrasyonu boyunca izlenebilir (Şekil 2.9). Amino asit veya proteinin net yükü sıfır olduğunda, eşdeğerlik noktasına yani izoelektrik noktaya gelinmiştir (pI).

Proteinler için pI değeri, proteinin elektriksel alana göç etmediği pH değeri olarak tanımlanabilir. Bir başka deyişle, bir protein pH derecelerinde ilerlerken, hangi pH değerinde göç etmeyi durdurursa, o değer proteinin izoelektrik noktasıdır.



Şekil 2.9 Basit amino asitler için titrasyon eğrisi

Basit amino asitlerin (iki fonksiyonel grup içeren) genel titrasyon eğrisi yukarıdaki gibidir. Tamamıyla protonlanmada $-\text{COOH}$ grubu için pK_a değerleri 1,8 - 2,4; $-\text{NH}_3^+$ grubu için ise 8,8 – 9,7 arasındadır. Amino asitlerin izoelektrik noktaları 5,5 ile 6,2 arasında değişir.

2.2.3 Amino Asitlerin Çözünürlüğü

Hidrofilik amino asitlerde R grubu su ile hidrojen bağı yapmakta ve genellikle sulu çözeltilerde çözünmektedirler. Serin, threonin ve tirozin hidroksil grubunun, sistein sülfidril grubunun, asparajin ve glutamin ise amid grubunun fonksiyonuyla hidrofilik sınıfa girmektedir. Bunlardan sisteinin sülfidril grubu ile tirozinin hidroksil grubu pH 7 de bir miktar iyonlaşır ve diğer amino asitlere göre çok daha kolay proton kaybederler. Asparajin ve glutaminin amid grupları ise kolayca aspartik asit ve glutamik asite hidrolizlenirler.

Hidrofobik amino asitlerin R grupları suda çok az çözünürler veya hiç çözünmezler. Hidrokarbon içeren amino asitlerde yan zincir uzunluğu arttıkça polarite azalmaktadır.

2.2.4 Amino Asitlerin Optik Özelliği

Dört farklı bileşenli tetrahedral karbon atomuna kiral denir. Amino asitlerde sadece glisin kiral özellik göstermez; çünkü R grubu hidrojenidir. Kiral özellik molekülün polarize ışığı sağa veya sola çevirebilme özelliği olarak tanımlanabilir. Proteinlerde bulunan bütün amino asitler L-gliseraldehit gibi aynı mutlak sterik konfigürasyondadır ve hepsi L- α -amino asittir. Doğada bulunmalarına rağmen D-amino asitler proteinlerde asla bulunmazlar. D-amino asitler sık sık polipeptit antibiotiklerde bulunmaktadır. İkinci asimetrik merkez izoleusin, hidroksilizin, threonin ve hidroksiprolin amino asitleri için mevcuttur.

Aromatik amino asitler triptofan, tirozin ve fenilalanin özellikle ultraviyole bölgede ışığı absorplar. Proteinlerin ultraviyole ışığı absorplama yetenekleri, ultraviyole alanda güçlü absorplama yapan triptofana bağlıdır. Birçok protein tirozin kalıntıları içerdiğinden spektroskopik ölçümlerde dalga boyu 280 nm kullanılır.

Triptofan, tirozin ve fenilalanin proteinlerin yapısındaki floresans veren amino asitlerdir. Bu amino asitler, proteinlerdeki konformasyon değişikliklerini belirleyen grup olarak kullanılır. Bunlardan kuantum verimi en yüksek olanı triptofandır. Triptofanın emisyonu yerleşmiş olduğu çevreye önemli ölçüde bağlıdır.

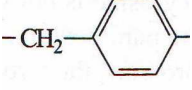
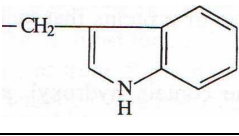
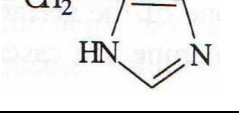
Çizelge 2.1 Bazı amino asitler için R grupları, pK ve pI değerleri

*pK değerleri R grupları içindir (Fennema, 1996)

Grup	İsim	R	pK ₁ (α -COO ⁻)	pK ₂ (α -NH ₃ ⁺)	pI
Monoamino-mono-karboksilik	Glisin	-H	2,34	9,78	6,06
	Alanin	-CH ₃	2,35	9,69	6,02
	Valin	-CH(CH ₃) ₂	2,32	9,62	5,97
	Lösin	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2,36	9,60	5,98
	İzolösin	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	2,36	9,68	6,02
Hidrokso-monoamino-monokarboksilik	Serin	-CH ₂ OH	2,21	9,15	5,68
	Threonin	-CH(OH)CH ₃	2,63	10,43	6,53
Monoamino-dikarboksilik	Aspartik Asit	-CH ₂ COOH	2,09 3,86*	9,82	2,97
	Asparajin	-CH ₂ CONH ₂	2,02	8,8	5,41
	Glutamik Asit	-(CH ₂) ₂ COOH	2,19 4,25*	9,67	3,22
	Glutamin	-(CH ₂) ₂ CONH ₂	2,17	9,13	5,65
Diamino-mono-karboksilik	Lizin	-(CH ₂) ₄ NH ₂	2,18	8,95 10,53*	9,74
	Arjinin	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ -(\text{CH}_2)_3\text{NHC}=\text{NH} \end{array}$	2,17	9,04 12,48*	10,76

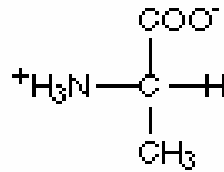
Çizelge 2.1 (Devam) Bazı amino asitler için R grupları, pK ve pI değerleri

*pK değerleri R grupları içindir (Fennema, 1996)

Grup	İsim	R	pK ₁ (α-COO ⁻)	pK ₂ (α-NH ₃ ⁺)	pI
Sülfür İçerenler	Sistein	-CH ₂ SH	1,71	10,78 8,33*	5,02
	Sistin	CH ₂ S ₂ CH ₂ (NH ₂)CHCOOH	1,65 2,26	7,85 9,85	5,06
	Methionin	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃	2,28	9,21	5,75
Siklik (aromatik halka içerenler)	Fenilalanin		1,83	9,13	5,98
	Tirozin		2,20	9,11 10,07*	5,65
	Triptofan		2,38	9,39	5,88
	Histidin		1,82	9,12 6,00*	7,58

2.2.5 Çalışmada Kullanılan Amino Asitler

2.2.5.1 Alaninin (Ala) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.10 Alaninin molekül şekli

Kimyasal Formül: C₃H₇NO₂, L-α-aminopropiyonik asit

Molekül Ağırlığı: 89,09 g/mol

Erime Noktası: 297°C

Alanin veya L-alanin, vücutta basit bir şeker olan glukozun enerjiye çevrilmesine ve fazla toksinlerin atılmasına yardımcı olur. Amino asitler proteinlerin yapı taşlarıdır ve kuvvetin, sağlıklı kasların anahtarıdır. Vücut, kas proteinlerini enerji üretmek için kullandığı anlarda oluşan aerobik aktiviteler sırasında hücreler zarar görebilir. Alanin, hücreleri bu zararlardan korumaya yardımcıdır.

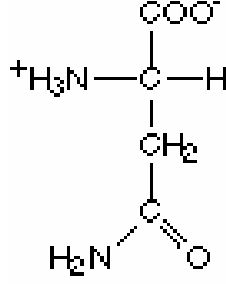
Alanin, alanin döngüsü adı verilen ve bir seri kimyasal reaksiyondan oluşan çok önemli bir olayla vücuttaki azot ve glukoz seviyelerini dengede tutar. Alanin döngüsü boyunca, hücrelerdeki veya dokulardaki herhangi bir amino asitin fazlalığı, glukozun yıkımıyla oluşan ve reseptör molekül olarak adlandırılan prüvata aktarılır. Daha sonra prüvat alanine dönüşür ve canlıya iletilir. Canlı alaninden azot çıkarır ve bunun bir kısmını daha sonra glukoz yapımında kullanmak üzere prüvata dönüştürür. Azotun bir kısmı ise üreye dönüştürülür. Glukoz, prüvat, alanin, prüvat, glukoz şeklinde ilerleyen bu döngü, hücre yaşamını desteklemesi için vücutta gerekli olan enerjiyi sağlamada yardımcı olmaktadır. Ayrıca bu döngü, vücutta glukoz ve amino asit sentezinde kullanılması için belirli bir miktar prüvat sağlar.

Alanin vücuttaki glukoz seviyesinin korunmasında önemli rol oynar; böylece vücutta enerji sağlar. Ayrıca kan şekerinin düzenlenmesinde de yardımcıdır. Araştırmalar sonucunda insülin kullanan şeker hastalarının belirli bir miktar (günlük 500-2000 mg) L-alanin aldıklarında, özellikle geceleri kan şekerlerindeki düşüklüğün engellendiği görülmüştür.

Alanin temel bir amino asit değildir. Yani direkt olarak günlük besinlerden alınmaz; vücut bu amino asiti kendisi üretir. Hipoglisemi, diabetes ve hepatit hastalarında alanin miktarı düşük seviyelerde bulunmasına rağmen, alanin eksikliğinin bu hastalıklara sebep olduğu kesinleşmemiştir. Vücudun alanin üretmesi için B vitaminlerine, özellikle B₅ ve B₆ vitaminlerine ihtiyacı vardır. Bunun yanı sıra alanin, valin, lösin, izolösin gibi dallanmış yan zincirli amino asitlerden üretilir.

Alanin suda 25°C' de 166,5 g/L ve %80 lik soğuk etanolde %0,2 oranında çözünürken, eter içerisinde çözünmez (The Merck Index, 1989).

2.2.5.2 Asparajinin (Asn) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.11 Asparajinin molekül şekli

Kimyasal Formül: $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$, α -aminosüksinamik asit, aspartik asit β -amid

Molekül Ağırlığı: 132,12 g/mol

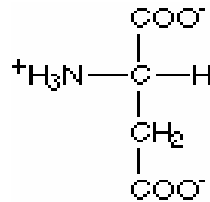
Erime Noktası: 234 – 235°C

Asparajin, aspartik asit ile bağlantılı bir amino asittir. Aspartik asit amonyak ile birleşerek asparajine dönüşmektedir.

Vücut metabolizmasının ve aspartik asit sentezinin yavaşlaması asparajinin vücutta düşük seviyelerde bulunduğunu gösterir. Bu durum, vücuda alınmış fazla proteinin yıkım ürünü olan ürenin sentezini ve atılmasını yavaşlatır. Ürenin vücuttan tam olarak atılmaması azot içeren zehirli maddelerin oluşmasına sebep olur. Bu maddeler canlıda dalgınlık, baş ağrısı, depresyon, sinirlilik ve ileri safhalarda psikolojik bozukluklara neden olur. Eğer dengeli beslenilirse vücutta asparajin yetersizliği oluşmaz. Çünkü uygun besinlerin emilimiyle vücutta gerektiği miktarda amino asit üretilir.

L-Asparajin, D-asparajinden daha çok yaygındır ve genellikle monohidrat olarak bulunur. Asparajinin mono hidrat tuzu suda 28°C’ de %3,53 oranında çözünür. Metanol, etanol, eter ve benzende çözünmeyen asparajin, asit ve alkali içerisinde çözünmektedir (The Merck Index, 1989).

2.2.5.3 Aspartik Asidin (Asp) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.12 Aspartik asidin molekül şekli

Kimyasal Formül: $C_4H_7NO_4$, aminsüksinik asit, 2-aminobütan-diyonik asit

Molekül Ağırlığı: 133,10 g/mol

Erime Noktası: 270 – 271°C

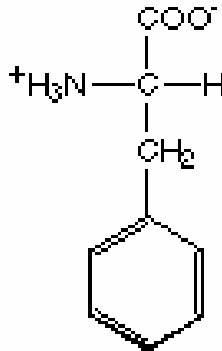
L-aspartat olarak da bilinen aspartik asit metabolizmanın dinç olmasına yardımcı olur ve bazen de fiziksel zihinsel yorgunluk, bitkinlik ve depresyonun tedavisinde kullanılır. Aspartik asit sitrik asit döngüsünde asparajin, arjinin, lizin, methionin, threonin, izolösin gibi amino asitlerin sentezi süresince önemli rol oynamaktadır. Bir koenzim olan nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) molekülünü hücrenin ana gövdesinden hücre mitokondrisine taşıyarak vücuda enerji sağlar. Mitokondri hücrenin ATP yani enerji ürettiği organeldir ve buradan üretilen enerji bütün hücresel aktivitelerde kullanılır. Aspartik asit beyindeki NADH konsantrasyonunu arttırarak zihnin daha duyarlı çalışmasını sağlamaktadır. Ayrıca amonyak gibi karaciğer, beyin ve sinir sistemine zarar veren toksinlerin vücuttan atılmasına yardımcıdır.

Aspartik asit, sağlıklı RNA ve DNA yapımı için gerekli olan minareleri hücrelere taşır ve immün sistemin proteinlerinin üretimini destekleyerek immün sistemi güçlendirmektedir.

Temel bir amino asit olmayan aspartik asit dışarıdan besinler yoluyla alınmaz, vücut tarafından yapılır. Ancak tabletler şeklinde ilaveleri satılmaktadır. Protein bakımından zayıf gıdalar tüketen, düzensiz ya da kötü beslenen kişilerde aspartik asit ile diğer amino asitlerin yetersizliği gözlenir ve aşırı derecede yorgunluğa yada depresyona sebebiyet verir.

Aspartik asit suda 20°C, 30°C’ de 1 g/222,2 mL ve 1 g/149,9mL, ayrıca asit ve alkalide çözünür; alkolde çözünmez (The Merck Index, 1989).

2.2.5.4 Fenilalaninin (Phe) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.13 Fenilalaninin molekül şekli

Kimyasal Formül: $C_9H_{11}NO_2$, β-fenil-alanin, α-aminohidrosinamik asit

Molekül Ağırlığı: 165,19 g/mol

Erime Noktası: 283°C

Fenilalanin temel bir amino asittir ve merkezi sinir sisteminin normal işleme için gereklidir. Depresyon belirtilerinin ve kronik acıların kontrolü gibi merkezi sinir sisteminin normal çalışmamasıyla ilgili birçok hastalığın tedavi edilmesine yardımcıdır. Özellikle beyin rahatsızlıklarının tedavisinde etkindir; çünkü beyin-kan zarından geçebilmektedir. Beyin-kan zarının, kırmızı kan hücreleri ve beyin destek hücrelerince korunan bir yapısı vardır ve beyin kanda dolaşan toksin, bakteri, virüslerden korur. Sadece bu zardan geçebilen kimyasallar beyin fonksiyonlarına etki edebilir.

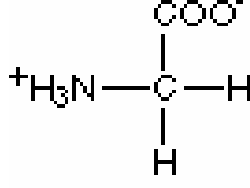
Vücudun epinefrin, dopamin ve nöroepinefrin hormonlarını yapabilmesi için fenilalanine ihtiyacı vardır. Bu üç nörotransmitter temel olarak kişinin algılamasını ve çevreyle etkileşimini kontrol eder. Fenilalanin alımıyla kişinin mutluluk ve uyanıklık hissi artarken açlık hissi azalmaktadır. Ayrıca kronik ağrıların tedavisi, hafıza ve konsantrasyon gelişimi bu amino asitle sağlanabilmektedir.

Fenilalaninin L-fenilalanin, D-fenilalanin ve DL-fenilalanin olmak üzere üç farklı yapısı vardır. Bunların her biri farklı rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. D yapısı acının kontrol edilmesinde daha etkin, L yapısı ruhsal ve zihinsel kontrolde, DL yapısı ise acı hissine ve zihinsel aktivitelere karşı duyarlıdır. Bunların yanında Parkinson hastalığının ve şizofrenin tedavisinde de fenilalanin kullanılır. Ancak bu ciddi sağlık problemlerine sahip hiç kimse uygun doz miktarını ve oluşabilecek yan etkileri bir doktora danışmadan fenilalanin kullanmamalıdır.

Yüksek tansiyona sahip veya migreni olan kişiler fenilalanin almamalıdır veya içerisinde çok miktarda bu amino asitten bulunduran yiyecekler tüketmemelidir. Çünkü fenilalanin bu rahatsızlıkların artmasına veya ilerlemesine neden olabilmektedir. Bu durum kalıtsal bir rahatsızlık olan fenilketonüri (PKU) olarak adlandırılmaktadır. Fenilalanin özellikle monoamin oksidase (MAO) inhibitörleri içeren antidepresanlarla birlikte alınmamalıdır. Aksi takdirde kan basıncında hayatı tehdit edici değişimler oluşturur. Yüksek dozlarda fenilalanin kullanılması sinir sistemine zarar verir.

Yetişkin kişilere günlük 2,2g fenilalanin alımı tavsiye edilmektedir. Bir yumurtada %5,4, kaymaksız sütte ise %5,1 oranında fenilalanin bulunmaktadır. İnsan organizması D-fenilalaninden çok az yararlanmaktadır. L-fenilalanin ticari olarak proteinlerden, örneğin ovalbumin, laktalbumin, zein ve fibrinden izole edilebilir. Metanol ve etanolde çok az çözünürken, suda 25°C’ de 29,6 g/L çözünmektedir (The Merck Index, 1989).

2.2.5.5 Glisinin (Gly) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.14 Glisinin molekül şekli

Kimyasal Formül: $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$, aminoasetik asit, glikokol

Molekül Ağırlığı: 75,07 g/mol

Erime Noktası: 233 – 290°C

Glisin kas dokularının oluşumunda ve glukozun enerjiye çevrilmesinde kullanılır. Ayrıca merkezi sinir sistemi ve sindirim sisteminin korunmasında yardımcıdır. Bazı kanser tiplerine karşı antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir.

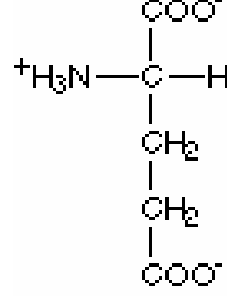
Vücutta normal RNA ve DNA yapılarının oluşturulmasına yardımcı olan glisin, hücresel fonksiyon ve oluşumların uygun yapılanmasını sağlamaktadır. Ayrıca hemoglobin biyosentezinde kullanılmaktadır. Vücuttaki keratin miktarını artırarak kas dokularının zarar görmesini önler. Vücut içerisinde glisin miktarı kaslarda olduğu kadar ciltte ve diğer bağ dokularında da fazladır. Cildin ve bağ dokularının sıkı ve esnek olmasını sağlayan kollojenin 1/3 ü glisinden oluşmaktadır. Eğer vücut glisinsiz kalırsa dokulardaki hasar tamir edilemez, cilt sarkık, gevşek bir hal alır ve serbest radikal, UV ışınları ve oksidasyona karşı dayanıklılığını kaybeder.

Glisin, enerji için gereken glukozu sağladığından glukogenik amino asit olarak da adlandırılır. Kandaki şeker seviyesini düzenlediğinden düşük enerjiye ve bitkinliğe dayalı hipoglisemi, anemi ve kronik bitkinlik sendromu (CFS) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yağların sindirilmesinde kullanılan safranin ve mide asitliğini düzenleyen maddelerin sentezine yardımcı olan glisin, sindirim sisteminin düzenli bir şekilde çalışmasını sağlamaktadır.

Glisin Merkezi sinir sistemi işlevleri için gerekli bir amino asittir. Yapılan araştırmalarda bu amino asitin hiperaktivite ve manik depresyon hastalıklarında nörotransmitterlerin sebep olduğu nöbetleri engellediği görülmüştür. Ayrıca gerektiğinde bir başka nörotransmitter olan serine dönüşerek şizofren hastalığının yönetiminde yararlı olabilmektedir. Bunların yanında yapılan ön denemeler sonucunda kanser tedavisinde umut verici sonuçlar vermiştir. Glisinin tümör ve melanoma ilerlemesini önleyebileceği düşünülmektedir.

Balık, et, süt, peynir gibi yüksek protein içeren yiyecekler glisinin en iyi kaynağıdır. Bunun yanı sıra birçok amino asit kapsül ve toz halde kullanılabilir. Glisin 100 ml suda 25°C’ de 25 g çözünmektedir (The Merck Index, 1989).

2.2.5.6 Glutamik Asidin (Glu) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.15 Glutamik Asitin molekül şekli

Kimyasal Formül: C₅H₉NO₄, glutaminik asit, 2-aminopentandiyonik asit

Molekül Ağırlığı: 147,13 g/mol

Erime Noktası: 247 – 249°C

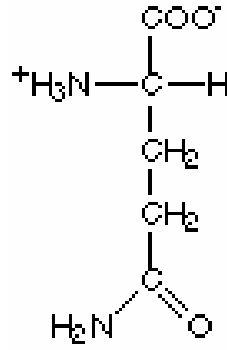
Glutamat olarak da adlandırılan glutamik asit, şeker ve yağ metabolizmasının düzeni için önemli bir amino asittir. Ayrıca kişilik bozukluklarının ve çocukluk dönemi davranış bozukluklarının düzeltilmesinde tedavi edici bir etkisi bulunmaktadır.

Glutamik asit vücutta bir başka amino asit olan glutamine veya beyinde inhibitör nörotransmitter olarak görev yapan gamma aminobütrik asite (GABA) dönüşebilmektedir. GABA yetersizliği, beyinde aşırı aktifliğe, nöbetlere veya hiperaktif davranışlara sebep olmaktadır.

Birçok gıda maddesinde tatlandırma amaçlı kullanılan, glutamik asitin sodyum tuzu monosodyum glutamata (MSG) alerjisi olan kişilerin, glutamik asit kullanmamaları gerekmektedir. Aksi takdirde kas, karın, mide ağrıları görülmektedir. Bu kişiler glutamik asitten kaçınarak veya B6 vitamini kullanarak bu olumsuz etkilerden korunabilirler.

Glutamik asitin D, L ve DL yapılarıyla, sodyum ve magnezyum tuzu da bulunmaktadır. L yapısı suda 25°C’ de 8,64 g/L çözünür; metanol, etanol, eter, aseton ve soğuk asetik asitte çözünmez. Sadece L-glutamik asit yiyeceklerde lezzet kalitesini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Hidroklorit yapısı ise bira üretiminde lezzeti iyileştirmek için kullanılmaktadır (The Merck Index, 1989).

2.2.5.7 Glutaminin (Gln) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.16 Glutaminin molekül şekli

Kimyasal Formül: C₅H₁₀N₂O₃, 2-aminoglutaramik asit, glutamik asit 5-amid

Molekül Ağırlığı: 146,15 g/mol

Erime Noktası: 185-186 °C

Glutamin vücuttaki kasların yapılandırılmasında ve korunmasında yardımcı bir amino asittir. Ayrıca zehirli amonyağın vücuttan atılmasında ve merkezi sinir sisteminin sağlıklı çalışmasında görev alır.

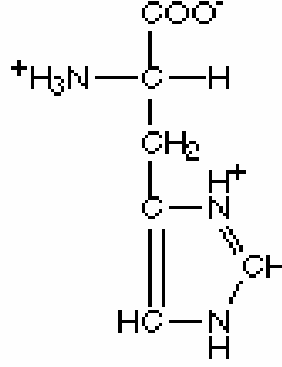
Kan-beyin zarından kolaylıkla geçebilen glutaminin beyin fonksiyonlarının düzenli çalışmasına katkısı vardır. Bu özelliğiyle zihinsel fonksiyonları geliştirmede, epilepsi, depresyon, şizofreni ve bunaklık gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca sinir sistemi için önemli bir enerji kaynağıdır. Eğer beyin yeteri kadar glukoz alamazsa, metabolizma glutamin seviyesini arttırarak gerekli enerjiyi karşılar.

Vücutta asit-alkali seviyesini dengede tutan glutamin sağlıklı bir sindirim sistemine destek verir. Direkt olarak bağırsak hücrelerince absorbe edilebileceğinden, bağırsak ile ilgili problemleri olan kişilere yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Glutamin normal hücre bölünmesi süresince vücudu desteklemektedir. DNA ve RNA gelişiminde ve immün sistem hücrelerinin oluşumunda önemli rol oynar. Glutamin eksikliğinde immün sistem görevlerini yerine getirmemektedir.

Glutaminin 1 gramı 20,8 mL suda 30°C’ de çözünürken, metanol, etanol, eter, benzen, aseton, etil asetat ve kloroform gibi çözücülerde çözünmemektedir (The Merck Index, 1989).

2.2.5.8 Histidinin (His) Fiziksel-Kimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Şekil 2.17 Histidinin molekül şekli

Kimyasal Formül: $C_6H_9N_3O_2$, (S)- α -amino-1H-imidazol-4-propanoyik asit

Molekül Ağırlığı: 155,16 g/mol

Erime Noktası: 287 °C

Vücudun tüm kısımlarında sağlıklı dokuların gelişiminde ve korunmasında kullanılmaktadır. Özellikle sinir hücrelerini saran ve beyinden vücudun çeşitli bölgelerine mesaj iletimini sağlayan miyelin kılıfta histidin kullanılmaktadır. Zihinsel rahatsızlıkların tedavisinde yararlı olabilmektedir. İyi bir zihinsel ve fiziksel sağlık için vücuttaki histidin miktarı dengede tutulmalıdır.

Histidin iki yaşından küçük çocukların büyüme ve gelişimleri için temel bir amino asittir. Histidin vücutta histamin üretmektedir. Bu olay histidinden karboksil giderilmesiyle oluşur. Histamin midede asit salgılanmasına ve vücutta alerji reaksiyonlara sebep olmaktadır.

Araştırmalar sonucunda histidinin doğal bir vücut temizleyicisi olduğu, vücudu radyoaktif zararlara karşı koruduğu ve ağır metallerin vücuttan atılmasında rol oynadığı görülmüştür. Vücut için çok önemli olan kırmızı ve beyaz kan hücrelerini ürettiğinden AIDS hastalığının ilk ortaya çıkış evresinde önleyici etki yapabileceği düşünülmektedir.

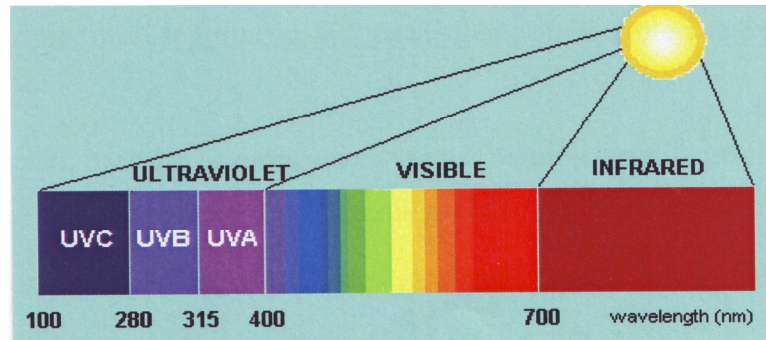
Diğer amino asitler gibi histidin, yüksek protein içeren örneğin et gibi besinlerde, aynı zamanda pirinç, buğday, çavdar gibi yiyeceklerde bulunmaktadır. Vücut kendi kendine histidin üretebildiği gibi doğal kaynaklardan da oldukça fazla elde edilmektedir. Bu yüzden temel amino asit olup olmadığı kesin değildir. Suda 25°C’ de 41,9 g/L çözünen histidin, alkolde çok az çözünür; eterde çözünmez (The Merck Index, 1989).

2.3 Mor Ötesi (Ultraviyole) Spektroskopisi

Elektromanyetik spektrumdaki ışınların madde ile etkileşmesinin incelenmesine spektroskopi denir. Elektromanyetik ışınla madde arasındaki farklı etkileşmelere dayanarak geliştirilen spektroskopilerden bazıları; Kızılötesi spektroskopisi (IR), Mor ötesi ve Görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS), Raman spektroskopisi (RS), Mössbauer spektroskopisi (MS), Nükleer Magnetik Rezonans spektroskopisi (NMR), Elektron Spin Rezonans spektroskopisi (ESR) dir.

Spektroskopinin temelleri 1665–1666 yıllarında ışığı bir prizmadan geçirerek kırmızıdan mora doğru yedi renge ayıran Newton tarafından atılmıştır (Şekil 2.18). Einstein ışınların birer kütesiz parçacık olan fotonlar şeklinde yayıldığını ileri sürmüştür. Isıtılarak yada ışınlanarak yani fotonlarla bombardıman edilerek uyarılan bir maddenin yaydığı ışınların analiz edilmesinden yayma (emission) spektrumu, madde üzerine sürekli gönderilen ışıklardan maddeyi geçebilenlerin analiz edilmesinden ise soğurma (absorption) spektrumu elde edilmektedir. Buna göre bir maddenin yayma spektrumundaki beyaz görünen çizgiler soğurma spektrumunda siyah görünür.

Mor ötesi ışınla, dalga boyu 10-400 nm olan ışınmadır ve elektromagnetik spektrumda x-ışınları ile görünür bölge arasındadır. 10-200 nm bölgesinde uzak mor ötesi, 200-400 nm mor ötesi veya yakın mor ötesi, 400-800 nm bölgesi görünür bölgedir. Mor ötesi ve görünür bölge spektroskopisi elektronik spektroskopi olarak adlandırılır.



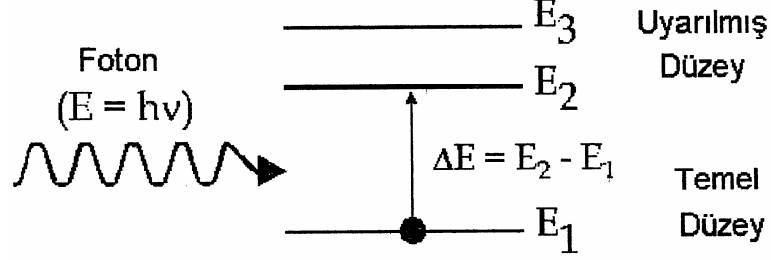
Şekil 2.18 Elektromagnetik spektrum

Bütün organik bileşikler mor ötesi ışınmasını soğururlar, bununla beraber bir kısmı çok kısa dalga boylarında ışınla yaptıklarından sadece 200 nm’ den yukarı soğurma yapan organik bileşiklerin mor ötesi analizinin pratik değeri vardır.

Elektronik spektroskopi, organik molekülde konjugasyonun derecesi ve aromatiklik hakkında bilgi verir. Mor ötesi analizi ile konjuge dienler, izole dienlerden ayrıldığı gibi çift bağların sayısı da bulunabilir. α,β - konjuge karbonil bileşikleri, α,γ - konjuge karbonil bileşiklerinden

ayrılabilir. Çok halkalı bileşiklerde aromatik konjugasyonun derecesi de yine mor ötesi analizlerle anlaşılabilir.

Mor ötesi spektroskopisinden elde edilen bilgi, organik yapı hakkında kırmızı ötesi ve NMR spektroskopisinden elde edilen bilgi kadar belirtici ve güvenilir olmakla beraber tamamlayıcıdır.



Şekil 2.19 Elektronların geçiş düzeyleri

Bir molekül tarafından mor ötesi ışımının soğurulması, elektronik uyarıya yol açar ve bir elektron düşük enerjili bir elektronik düzeyden (E_1) daha yüksek enerjili bir düzeye (E_2) geçer. En olası uyarma, yani temel düzeyden uyarılmış düzeye geçiş, basitçe en düşük enerjili boş bir molekül yörüngesinden en yüksek enerji dolu bir molekül yörüngesine geçişe karşılık gelir. Fakat her bir elektronik düzeye titreşme düzeyleri ve her bir titreşme düzeyine dönme düzeyleri karşılık geldiğinden, elektronik uyarma dönme ve titreşim uyarmasına da yol açar. Sonuçta ince bir mor ötesi soğurma çizgisi yerine geniş bir mor ötesi soğurma bandı elde edilir.

Soğurma bandının yeri özellikle soğurmanın en yüksek değerine karşılık gelen dalga boyu ve soğurmanın şiddeti, soğurmaya yol açan elektronik geçişin türü hakkında bilgi verir.

Ultraviyole spektroskopisinden çeşitli yönlerden yararlanılır. Bunlar başlıca şunlardır:

- Kalitatif analizde
- Kantitatif analizde
- Titrasyonda
- Molekül ağırlığı tayininde
- Yük aktarma kompleksi teşekkülünde
- Asit ve bazlık sabitlerinin tayininde
- Kompleks stokiyometrisinin ve sabitinin bulunmasında

Spektrofotometrik ve fotometrik yöntemlerin önemli özellikleri şu hususları içerir:

- Hem organik, hem de inorganik sistemlere yaygın uygulanabilirlik
- 10^{-4} M' dan 10^{-5} M' a kadar değişen tipik duyarlılık değerleri
- Orta derecede seçicilik
- İyi bir doğruluk
- Veri toplama kolaylığı ve elverişliliği

Bir maddenin absorpsiyon spektrumunu etkileyen başlıca değişkenler çözücünün cinsi, çözelti pH' si sıcaklık, elektrolit derişimi ve bozucu maddelerin varlığıdır. Bu değişkenlerin etkileri bilinmeli ve analiz koşulları ona göre seçilmelidir (Skoog vd., 1998).

Mor ötesi spektrometresinde ışın kaynağı olarak mor ötesi veya görünür bölge için sırasıyla hidrojen veya döteryum lambası (185-390 nm) ve tungsten lambası (350-800 nm) kullanılır. Monokromatör olarak bir prizma veya kırınım ızgarası kullanılır. Görünür bölge için cam prizma yeterlidir, fakat mor ötesi için kuvars (silika) gereklidir. Doğal kuvars 210 nm' nin altında soğurgan olduğu halde, bunun yerine kullanılan saf sentetik erimiş kuvars 185 nm' nin altında soğurgandır. Mor ötesi bölgede dedektör olarak fotoelektrik tüp veya fotoçoğaltıcı tüp kullanılır. Birincisinde, havası boşaltılmış bir kabın kuvars penceresinden giren mor ötesi ışın toprak alkali metal oksit ile kaplanmış bir katot üzerine düşer ve fırlayan elektronlar anot olarak kullanılan bir metal tele akarak bir elektrik olay oluştururlar (fotoelektrik olay), ikincisinde ise akımın şiddeti artırılır (Gündüz, 1990).

2.3.1 Lambert-Beer Yasası

Lambert Kanunu: Lambert' e göre (1760), bir çözeltiden geçen monokromatik bir ışın demetinin şiddeti, çözeltinin derinliğiyle (çözelti içinde aldığı yolla) logaritmik, üstel veya geometrik olarak azalır.

Logaritmik olarak,

$$I = I_0 \cdot e^{-b \cdot l} \text{ veya} \quad (2.8)$$

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot l} \left(a = \frac{b}{2,303} \right) \quad (2.9)$$

şeklinde gösterilir. Analitik işlemlerde ikinci eşitlik kullanılır.

I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti

I = Çözeltiyi terkeden ışının şiddeti

a = Çözeltiden geçen ışın demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit

l = Çözeltinin konduğu hücrenin kalınlığı

Lambert' in verdiği bu logaritmik bağıntı daha önce Bouger tarafından da verilmiştir (1729). Bu nedenle kanuna, Lambert-Bouger kanunu da denir.

Beer Kanunu: Beer'e göre (1852) aynı derinlikteki bir çözeltiden geçen ve çözelti tarafından absorplanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltinin konsantrasyonu ile logaritmik veya üstel veya geometrik olarak azalır.

Logaritmik olarak,

$$I = I_0 \cdot e^{-b \cdot c} \text{ veya} \quad (2.10)$$

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot c} \left(a = \frac{b}{2,303} \right) \quad (2.11)$$

şeklinde verilir. Analitik hesaplamalarda ikinci eşitlik kullanılır.

I_0 = Gelen ışının şiddeti

I = Çözeltiyi terk eden ışının şiddeti

a = Çözeltinin türüne ve dalga boyuna bağlı bir sabit

c = Çözeltinin konsantrasyonu

Çözeltiyi terkeden ışının şiddetini biri konsantrasyon, diğeri ışının çözelti içinde katettiği yola bağlayan bu iki kanun birleştirilerek Lambert-Beer olarak adlandırılan şu temel bağıntı elde edilir.

$$I = I_0 \cdot 10^{-a \cdot l \cdot c} \quad (2.12)$$

I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti

I = Çözeltiden çıkan ışın demetinin şiddeti

a = Çözeltinin absorplama katsayısı

l = Işın demetinin içinden geçtiği çözeltinin kalınlığı

c = Çözeltinin konsantrasyonu

Eşitliğin eksi logaritması alınırsa,

$$\log \frac{I_0}{I} = a \cdot l \cdot c = A \quad (2.13)$$

eşitliği elde edilir.

A = Absorbans

(2.11) eşitliğinden anlaşılağı gibi a sabiti, çözelti konsantrasyonu ve hücre kalınlığının birimine göre değışir. Konsantrasyon molarite, hücre kalınlığı cm olarak alındığında a yerine ϵ kullanılır. Bu molar absorpsiyon katsayısı veya molar absorbtivite olarak adlandırılır. Birimi de $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ dir.

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad (2.14)$$

ϵ çözeltideki maddenin bir özelliğı, a ise herhangi bir örneğın özelliğidir. Dolayısıyla absorbans örneğın konsantrasyonu ve ölçümün yapıldığı kabın ışın yoluyla değışir, ϵ ise belli bir dalga boyunda örnekteki belirli bir madde için konsantrasyon ve ölçüm yapılan kabın ışın yoluna bağılı olmaksızın sabittir.

Geçirgenlik: Aynı bir ışın demetinin çözeltiden geçen kısmının çözücüden geçen kısmına oranına geçirgenlik denir ve T ile gösterilir.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.15)$$

buradan da,

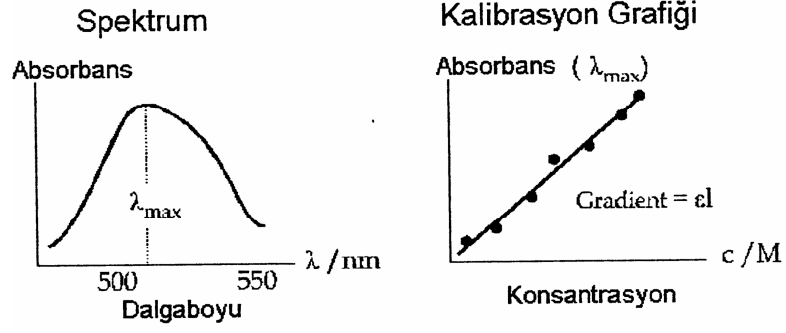
$$A = - \log T \quad (2.16)$$

şeklinde bir bağıntı elde edilir.

Lambert-Beer yasası, pek çok madde için geniş bir derişim aralığında geçerlidir. Mor ötesi spektroskopisi ile kantitatif analiz yaparken, derişimi bilinmeyen maddenin şüpheli derişim aralığında hazırlanan, derişimi bilinen çözeltileri için çizilen Absorbans – Konsantrasyon (Çalışma veya kalibrasyon) eğrisi dar bir derişim aralığında genellikle doğrusaldır (Erdik,1993; Skoog vd., 1998).

Nicel ölçümler Lambert-Beer yasası ile absorbans x konsantrasyon kalibrasyon grafiğinin kullanımını içerdüğinden doğrusal bir grafik elde edilmelidir.

ϵ maddeden maddeye değıştiğı gibi aynı bir madde için dalga boyuyla da değışir. Bu nedenle ϵ absorpsiyonun en yüksek olduğı dalga boyunda (λ_{max}) hesaplanır. En yüksek tepe noktası molar absorptivitenin en yüksek olduğı değeri gösterir ve dolayısıyla bu değerde analizin duyarlılığının bir göstergesidir (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 UV spektroskopinin spektrum ve kalibrasyon grafiği

2.3.1.1 Lambert-Beer Yasasından Sapmalar

Maddelerin absorpsiyon – konsantrasyon grafikleri çizildiğinde her zaman bir doğru değil, doğruluktan sapmalar görülür. Böyle sapmaların ya da hataların çeşitli nedenleri olabilir. Bunlar başlıca:

- Cihazdan gelen sapmalar
- Kimyasal maddelerden gelen sapmalar
- Analizci hatasından gelen sapmalar

Cihazdan Gelen Sapmalar: Bir sapmanın cihazdan gelip gelmediğini anlamak için, maksimum absorplama dalga boyu ve absorplama katsayısı bilinen saf bir maddenin, uygun konsantrasyonda bir çözeltisi yapılır ve bu çözeltinin kalınlıkları farklı çeşitli kaplardaki absorpsiyonları ölçülür. Bulunan absorpsiyon değerleri çözelti kalınlıklarına karşı grafiğe geçirilir. Cihazda hata yoksa elde edilen grafiğin bir doğru olması gerekir. Aksi halde cihazda bir hata var demektir. Cihazdaki hata cihaza gelen potansiyelin düzgün olmamasından, ışın kaynağının veya dedektör sisteminin iyi çalışmamasından, kaçak ışıklardan, monokromatörün hatalı olmasından ve slit aralığının iyi ayarlanmamasından kaynaklanabilir.

Kimyasal Sapmalar: Lambert-Beer kanununa göre konsantrasyon absorpsiyon bağıntısı koordinatlar sisteminin sıfır noktasından geçen bir doğrudur. Çözeltide meydana gelen bazı olaylar bu konudan sapmalara neden olur. Bunlar, dissosiyasyon, assosiyasyon, iyonlaşma, pH ayarlanması, fosforesans ve flüoresans, çözücü değişmesi ve sıcaklıktır.

Analizci Hatasından İleri Gelen Sapmalar: Analizcinin dikkatsizliği ve bilgisizliğinden ileri gelen sapmalar olabilir. Bunlar,

- Yüksek absorplama konsantrasyonlarında çalışmak. Tayinlerde mecbur olmadıkça 0,2-0,9 absorpsiyonları dışına çıkılmamalıdır. Bu şartları ayarlamak için çoğu kez konsantrasyon ayarlaması yapılır.

- Çözelti içinde kabarcıklar ve asılı parçacıklar bulunmamalıdır.
- Çözeltinin içine konduğu kap kirli ve çizik olmamalıdır.

2.4 Birinci Dereceden Reaksiyonlar

A → Bir veya birkaç ürün (2.17)

Tek moleküllü olan bu reaksiyonun herhangi bir t anındaki hızı, A' nın bu andaki konsantrasyonu ile orantılıdır. Birinci mertebeden bir reaksiyonun hız sabiti, k, başlangıç konsantrasyonu A₀ ve herhangi bir t anındaki konsantrasyonu da A ile gösterildiğinde, birinci derece reaksiyon hızı aşağıdaki gibi yazılır:

$$\text{Reaksiyon Hızı} = -d[A]/dt = k.[A] \quad (2.18)$$

Düzenlenip integre edilirse;

$$\int d[A]/[A] = \int -k.dt \quad (2.19)$$

$$\ln[A] = -k.t + \text{sabit} \quad (2.20)$$

t = 0 iken [A] = [A]₀ olduğundan sabit = ln [A]₀ olur ve

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{[A]_0}{[A]} = \frac{2,303}{t} \log \frac{[A]_0}{[A]} \quad (2.21)$$

$$\log[A] = \log [A]_0 - \frac{k.t}{2,303} \quad (2.22)$$

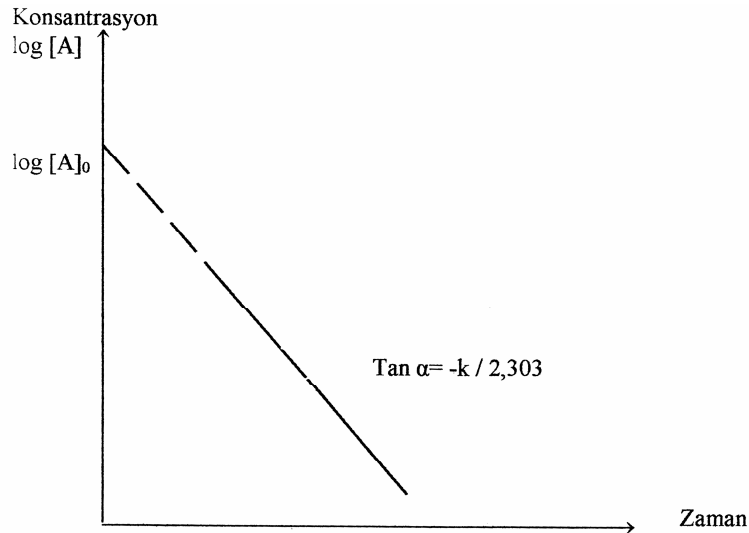
Doğrunun eğimi $-k/2,303$ değerini, t = 0'a karşılık olan ordinat da log[A]₀ değerini verir. Buna göre bir doğrunun elde edilmesi reaksiyonun birinci mertebeden olduğunun kanıtıdır ve eğimden hız bulunur.

k' nın birimi (2.22)' de yerine yazılırsa;

$$k = (\text{mol.L}^{-1})/\text{zaman}(\text{mol.L}^{-1})$$

$$k = 1/\text{zaman} = \text{zaman}^{-1}$$

k sabitinin nümerik değeri kütle ve konsantrasyona bağlı olmayıp sadece zaman biriminin fonksiyonudur.



Şekil 2.21 Birinci dereceden bir reaksiyonda konsantrasyon-zaman grafiği

2.5 Daha Önceki Çalışmalar

2.5.1 Metal, Ligand ve Polimer Katalizli ve Katalizsiz Askorbik Asit Oksidasyonu

Askorbik asidin Cu(II) ve Fe(III) iyon katalizli ve katalizsiz oksidasyon kinetiği 25 ve 0,4°C’ de ölçülmüştür. Askorbik asidin katalizsiz oksidasyon hızının %20 ve daha yüksek konsantrasyonlarda moleküler oksijen ile orantılı olduğu bulunmuştur. pH 2-5,5 aralığında askorbik asidin sadece monoionik türleri mevcuttur ve bu türler moleküler oksijen ile reaksiyona girmiştir. Askorbat anyonunun kendiliğinden oksidasyonunda moleküler oksijenin direkt yer alacağı bir mekanizma önerilmiştir. Demir ve bakır iyon katalizli oksidasyon hızı, moleküler oksijen konsantrasyonuna bağlı olarak birinci mertebeden bulunmuştur. İyon katalizli oksidasyon için metal-askorbat kompleksine bağlanan moleküler oksijen içeren bir reaksiyon yolu önerilmiştir. Askorbat anyonunun oksidasyonuna bakır iyonunun katalitik aktivitesi demir iyonunkinden daha fazla olduğu bulunmuştur. Nötral türlerin oksidasyonunda ise demir iyonlarının bakır iyonlarından daha iyi bir katalizör olduğu bulunmuştur. Askorbik asidin monoionik ve nötral türleri üzerine bu iki metal iyonunun katalitik aktivitesindeki farklılık, askorbik asidin iki türü ile kompleks oluşturmadaki farkı ile açıklanmıştır (Khan ve Martell, 1967a).

Bakır ve demir kelat bileşiklerinin katalizör olarak kullanıldığı askorbik asit oksidasyon kinetiği 25 ve 0,4°C’ de gerçekleştirilmiştir. pH 2,25-3,45 aralığında metal kelat bileşiklerinin hidrolizlenmiş ve polimerik biçimlerinin katalitik katkısının önemsiz olduğu bulunmuştur. Bakır kelatlarının katalitik aktivitesinin iminodiasetobakır(II) > 2-hidroksietiliminodiasetobakır(II) > etilendiamintetraasetobakır(II), demir kelatlarının

aktivitesinin ise 2-hidroksietiliminodiasetodemir(III) > nitriloasetodemir(III) > 2-hidroksietiletilendiamintriasetodemir(III) > sikloheksandiamintetraasetoferrat(III) > dietilentriamin-pentaasetoferrat(III) şeklinde azaldığı bulunmuştur. Bakır ve demir kelatlarının katalitik aktivitesi oksijen konsantrasyonundan bağımsızdır. Metal-kelat bileşiklerinin stabilitesi ile katalitik aktiviteleri arasında lineer bir ilişki bulunmuştur. Reaksiyon enerjileri temel alınarak değişik metal-kelat bileşiklerinin reaktiviteleri arasındaki farklar açıklanmıştır (Khan ve Martell, 1967b).

Askorbik asidin vanadil iyonlarıyla moleküler oksijen varlığında ve olmadan oksidasyon kinetiği 25 ve 0,4°C' de, 0,1 M (KNO₃) iyonik şiddette gerçekleştirilmiştir. pH 1,75-2,85 aralığında %99' dan fazla metal iyonunun hidroliz olmadığı bulunmuştur. Moleküler oksijen olmadan vanadil iyonu oksidan olduğu zaman, askorbik asit oksidasyonu hidrojen iyon konsantrasyonuna bağlı olarak birinci mertebeden bulunmuştur.

$$\text{Hız} = k[\text{H}_2\text{A}][\text{VO}^{2+}][\text{H}^+] \quad (2.23)$$

eşitliği geçerlidir. Moleküler oksijen varlığında vanadil iyon katalizli askorbik asit konsantrasyonu birinci mertebededir, hidrojen iyonu ve oksijen konsantrasyonuna bağlıdır.

$$\text{Hız} = k[\text{H}_2\text{A}][\text{VO}^{2+}][\text{H}^+][\text{O}_2] \quad (2.24)$$

eşitliği geçerlidir. Vanadil iyonunun aktivitesinin, demir ve bakır iyonunkinden az olduğu bulunmuştur. Moleküler oksijen varlığında ve yokluğunda vanadil iyon katalizli askorbik asit oksidasyon mekanizması önerilmiştir (Khan ve Martell, 1968a).

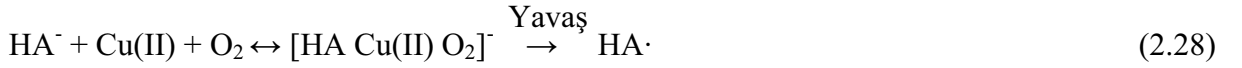
Askorbik asidin oksidasyon kinetiği 25 ve 0,4°C' de dietilentriaminpentaasetikasit (DTPA), 1,2sikloheksandiamintetraasetikasit (CDTA), etilendiamintetraasetikasit (EDTA) ve N-hidroksi etilendiamintetraasetikasit (HEDTA) Fe(III) kelatlarıyla incelenmiştir. pH 1,8-3,45 aralığında hızların azalma sırası, Fe(III)-HEDTA > Fe(III)-EDTA > Fe(III)-CDTA > Fe(III)-DTPA şeklindedir. Oksidasyon hızlarının ve oksidasyon reaksiyonunun aktivasyon parametreleri farklılığı tartışılmıştır (Khan ve Martell, 1968b).

Uranil iyon katalizli askorbik asit oksidasyonu 25 ve 40°C' de gerçekleştirilmiştir. Potansiyometrik titrasyon verilerinden yararlanarak askorbik asidin 40°C ve 0,1 M (KNO₃) için disasiyasyon sabitleri $2,69 \times 10^{-4}$ ve $1,05 \times 10^{-12}$, D₂O' da 25°C ve 0,1 M (KNO₃) için disasiyasyon sabitleri $2,7 \times 10^{-5}$ ve $6,00 \times 10^{-13}$ olarak bulunmuştur. Uranil iyon katalizli askorbik asit oksidasyonu birinci mertebededir ve substrat, katalizör, moleküler oksijen, hidrojen, döteryum iyon konsantrasyonlarına bağlı hız eşitliği,

$$\text{Hız} = k[\text{H}_2\text{A}][\text{UO}^{2+}][\text{H}^+][\text{O}_2] \quad (2.25)$$

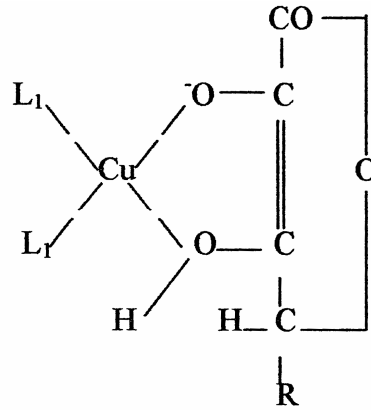
şeklindedir. Uranil iyonu katalizör olarak vanadil iyonundan daha az aktiftir. Uranil iyon katalizli oksidasyon için aktivasyon parametreleri bildirilmiş ve reaksiyon için uygun bir mekanizma önerilmiştir (Khan ve Martell, 1969).

L-askorbik asidin bakır tuzu katalizli otoksidasyon kinetiği, 35°C' de tamponsuz sulu çözeltide, iyonik şiddet dikkate alınmadan çalışılmıştır. Katalitik yetenekleri $\text{CuCl}_2 > \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \approx \text{CuSO}_4$ sırasındadır. pH, bakır iyon konsantrasyonu ve oksijenin kısmi basıncının değişik sıcaklıklarda reaksiyon hızına olan etkileri bir mekanizmayla verilmiştir. Reaksiyon mekanizmasında askorbat radikali oluşumu için iki yol önerilmiştir. Bunlar;

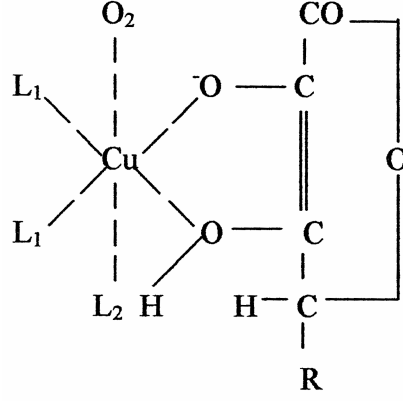


Son ürün dehidroaskorbik asit, $\text{HA}^\cdot$ ve $\text{A}^{\cdot -}$ oluşabilir. Hidrojen peroksit askorbik asitle reaksiyon verir, ayrıca dehisroaskorbik asit verir (Ogata vd., 1967).

(HA^-) elektronunu Cu(II) iyonuna vermekte ve şu muhtemel komplekslerin oluştuğunu önermiştir (Ogata, 1968).



Şekil 2.22 $[\text{HA Cu(II)}]^-$ kompleks (Ogata, 1968)



Şekil 2.23 $[HA Cu(II) O_2]^-$ kompleks (Ogata, 1968)

Demir ve bakır katalizli askorbat oksidasyonuna oksidan, pH ve ligandların etkisi incelenmiştir. Katalizör-substrat kompleks oluşumuna pH etki ederken, oksidan bu kompleksin bozunmasına etki etmiştir. Bakır iyonu katalizör, ligandlar inhibitör olarak kullanılmıştır. Demir iyon katalizörleri ile nötral pH de aminopolikarboksilik ligandlar için, daha stabil demir kompleksleri oluşmuştur. Ligand veya pH gibi değişikliklerle hızlar azalmış ve aktivitelerin değişimine neden olmuştur. Üçlü bir kompleks (katalizör-substrat-oksidan) oluşmuştur (Skov ve Vonderschmitt, 1975).

Askorbik asidin Mn^{3+} ile sulu asidik perklorat ortamında oksidasyonunun kinetik ve mekanizması durdurulmuş akış spektroskopisiyle (stopped flow spectrophotometry) çalışılmıştır. Oluşumun hız eşitliği,

$$-1/2 d [Mn^{3+}]/dt = (k_a + k_b[H^+]^{-1})[Mn^{3+}][AA] \quad (2.29)$$

Reaksiyonda Mn^{3+} (aq) ve $[Mn(OH)]^{2+}$ (aq) ile askorbik asitin disosiyasyon olmamış türleri bulunmaktadır. Benzendioller içeren benzer reaksiyonlarla karşılaştırma askorbik asit redüksiyon potansiyelleri ve oksidasyon mekanizması üzerine bazı sonuçlar ileri sürmüştür (Pelizzetti vd., 1978).

Moleküler oksijen ve Cu^{2+} , nin polinükleer kompleksi polivinilpridin (PVP) katalizli askorbik asit oksidasyon mekanizması çalışılmıştır. Anaerobik koşullarda, askorbik asitin $Cu(II)$ PVP ile reaksiyonunda yarılanma süresi, $[Cu^{2+}]$ ' den bağımsızdır. pH 3,5' da

$$t_{0,5}(\text{dak.}) = 0,8 + 5 \times 10^{-4} [AA] \quad (2.30)$$

bakır askorbat ara ürünü oluşmuştur ($K_c \approx 10^4 M^{-1}$). Askorbik asit serbest radikalleri, ESR tekniğiyle kombine edilmiş olan akış tekniğiyle saptanmıştır. Radikallerin küçük kararlı hal konsantrasyonlarında, makromolekül kompleks içinde bozulduğu görülmüştür. $PVPCu(II)DH^-$ üçlü kompleks disosiyasyonu için hız sabiti $\approx 0,4 \text{ dak}^{-1}$ bulunmuştur.

Cu(I)PVP ile oksijen arasındaki reaksiyon sonucu makromolekül dışında O_2^- oluşmadığı görülmüştür. Bu reaksiyonun hız sabiti $(1,3 \pm 0,15) \times 10^2$ M olarak bulunmuştur. Katalitik reaksiyonun siklik mekanizmasında bakır iyonlarının redoks durumunda değişme olduğu görülmüştür. pH 3,5' da toplam bakır iyonları Cu(I)PVP kompleksi şeklinde bulunmaktadır. Bu koşullarda AA oksidasyon hızı, O_2 ile Cu(I)PVP reaksiyon hızı ile sınırlanmıştır. pH 4,5' da tüm reaksiyon hızı Cu(II)PVP ile DH' nin etkileşim hızıyla kontrol edilmiştir (Skurlatov vd., 1979).

L-askorbik asidin tris(oksalo)kobaltat(III), $[Co(C_2O_4)_3]^{3-}$ ve tris-(1,10-fenantrolin)demir(III) $[Fe(fenil)_3]^{3+}$ ile oksidasyon kinetiği sulu çözeltide değişik koşullarda incelenmiştir. pH 0,3–4,7 aralığında reaksiyon mekanizması deneysel sonuçlarla uyum göstermiştir.



X = tris(oksalo)kobaltat(III) ve tris-(1,10-fenantrolin)demir(III) n = 3- ve 3+ ; H_2A ve HA^- askorbat anyonunun protonlanmış türleridir. Hız sabitleri ise k_1 ve k_2 , asit disosiyasyon sabiti K_a 25°C' de 0,1-1 mol dm^{-3} iyonik şiddette saptanmıştır. Sonuçlar, dış elektron transfer reaksiyonu için, Marcus teorisine göre tartışılmıştır. H_2A' ve H_2A türlerinin molekül orbital enerjileri ve H_2A^+ ve H_2A ile HA' ve HA^- arasındaki toplam elektronik farklar CNDO/2 MO kullanılarak hesaplanmış ve Marcus teorisinin kinetik verilere uygulanmasıyla hesaplanan redoks potansiyellerinin karşılaştırması yapılmıştır (Kimura vd., 1982).

Klorür iyonlarının çözünmüş oksijen ile bakır katalizli AA oksidasyonunun kinetik ve mekanizması üzerine etkisi pH 2,0-3,5 aralığında ve klorür konsantrasyonunun 0,2 mol dm^{-3} 'e çıktığı konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Tüm aralıkta hız eşitliği,

$$-d[O_2]/dt = k.[O_2] \quad (2.35)$$

toplam askorbat, toplam bakır ve hidrojen iyon konsantrasyonu sabit olduğu durumda genel bir bağıntı elde edilmiştir.

$$k = \frac{A + B[Cl^-]}{C + D[Cl^-] + E[Cl^-]^2} \quad (2.36)$$

A ve B' yi sabitlemek için saf nitratlı ortamda A ve E sabitleri veriler kullanılarak hesaplanmıştır ve bütün sabitlerin pH, toplam bakır ve askorbat konsantrasyonuna bağlı olduğu bulunmuştur (Jameson ve Blackburn, 1982).

L-askorbik asidin Cu^{2+} iyonları ile oksidasyon kinetiği değişik pH ve sıcaklıklarda durdurulmuş akış (stopped-flow) tekniğiyle çalışılmıştır. L-askorbik asit ve bakır iyonlarına bağlı olarak reaksiyon birinci mertebededir. Hız azalması,

$$-d(\text{Cu}^{2+})/dt = (5,4 + 0,56/10^{-4} + (\text{H}^+))(\text{AA})(\text{Cu}^{2+}) \quad (2.37)$$

eşitliğiyle verilmektedir. Arrhenius parametreleri, entropiler ve serbest aktivasyon enerjileri diğer metal iyonları ile L-askorbik asidin oksidasyonu ile bulunanlarla karşılaştırılmıştır (Martinez, 1984).

L-askorbik asidin oksidasyonu, L-dehidroaskorbik asit verir. Bu reaksiyon çeşitli antioksidan reaktifler kullanılarak incelenmiştir; O_2 , Ti^{3+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Co^{3+} , Mn^{2+} , $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}$, Ni^{2+} ve Fe^{3+} (Martinez vd., 1984).

Fe(III) – aminoasit kompleksleri pH' a bağlı olarak polarografik olarak çalışılmış ve ESR spektroskopisi aracılığıyla yorumlanmıştır. Biri asidik pH' da ESR' de saptanan düşük molekül ağırlıklı, diğeri bazik pH' de ESR' de saptanamamış yüksek molekül ağırlıklı iki kompleksin olduğu görülmüştür. Fe(III)' ün yarı dalga potansiyeli aminoasit ligandları tarafından düşürülmüştür. Fe(III)-aminoasit komplekslerinin C vitamini ile redoks etkileşimi sonucunda askorbil radikal konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Askorbik asidin Fe(III) ile pH 7' de oluşturduğu kompleksin polarografik yarı dalga potansiyeli -0,55 V vs. S.C.E' dir (Naturforsch, 1984).

Canlı olmayan sistemlerde askorbik asit otoksidasyonunu korumak ve rejenere askorbik asit içinde dehidroaskorbik asit ile reaksiyonunu sağlamak için, askorbik asit ve dehidroaskorbik asit ile GSH (glutation)' in etkileşimi çalışılmıştır. 37°C' de bekletilen ve tamponlanmış (pH 7,4) 1 mM askorbik asit çözeltisi, oksijen varlığında hızlı bir askorbik asit kaybına uğramıştır. Çözeltiye ilave edilen GSH, askorbik asit oksidasyonunu azaltmıştır. Askorbik asit otoksidasyonuna karşı maksimum koruma 0,1 mM GSH ile sağlanmıştır. Askorbik asit otoksidasyonunu 0,01 mM bakır iyonları hızlandırmıştır. GSH standart eğrileri baz alınarak, GSH' nin bakır iyonlarıyla kompleksleşmesinde çözeltideki azalan GSH miktarları bulunmuştur. Sonuçlara göre GSH, askorbik asit otoksidasyonunda katalizör olarak görev yapan Cu iyonları ile kompleks oluşturarak inhibitör etki yapmıştır. 37°C' de askorbik asit otoksidasyonunda 10 mM' a kadar GSH ilavesi yapıldığında askorbik asitin rejenerasyonun yürümediği gözlenmiştir. Dehidroaskorbik asidin hızlı hidrolizi yüzünden, AA oksidasyonu

ile oluşan dehidroaskorbik asit ile GSH arasındaki direkt reaksiyon gözlenememiştir. Daha düşük sıcaklıkta dehidroaskorbik asidin kararlılığı artmış ve askorbik asit oluşturmak üzere GSH ile dehidroaskorbik asit arasındaki direkt reaksiyon bulunmuştur (Winkler, 1987).

Sulu çözeltide L-askorbik asidin 2,6-diklorofenolindofenol ile oksidasyon kinetiği çalışılmıştır. Reaksiyon hızı, hidrojen askorbat iyonunun iyonlaşmamış L-askorbik asitten az reaktif olduğu için, pH' nin artmasıyla azalmıştır. İki türün oksidasyon hız sabitleri değerlendirilmiş ve reaksiyon için uygun bir mekanizma önerilmiştir (Rao vd., 1987).

Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu için askorbat – metal iyonu – dioksijen ara üçlü kompleksinin oluşumu Şekil 2.24' de gösterilen mekanizmayı önermişlerdir. Bu incelemede ara dioksijen kompleksinde metal iyonu ile dioksijen arasındaki bağlanma çok zayıf olduğundan, 1a ve 1b'deki rezonans şekli ile gösterilebileceği belirtilmiştir. Hız tayin eden elektron aktarma basamağı “2” ile gösterilmiştir. Bu Cu(II) kompleksi zayıfça koordine edilmiş dehidroaskorbik asit ve çok kuvvetli koordine edilmiş hidroperoksit içermektedir. Bu kompleks, serbest metal iyonu, hidrojen peroksit ve oksidasyon ürününe hızlı olarak ayrılır (Seib ve Tolbert, 1989).

Askorbik asidin sulu bakır(II) ile oksidasyonu anaerobik koşullarda $[Cu^{2+}]$ $(1-5) \times 10^{-3}$ M ile toplam asit konsantrasyonu 5×10^{-5} M ve $[H^+]$ $(0,5-10) \times 10^{-3}$ M olacak şekilde 1 M $NaClO_4/HClO_4$ içinde $25^\circ C$ ' de çalışılmıştır. Ayrıca $(0,5-7) \times 10^{-3}$ M konsantrasyon aralığında klorür iyonunun etkisi incelenmiştir. Yalancı birinci mertebeden hız sabiti,

$$k = (a+b[Cl^-])[Cu^{2+}]/(K_a+[H^+]) \quad (2.38)$$

$a = (4,0 \pm 0,13) \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $b = 0,58 \pm 0,0036 M^{-1} s^{-1}$. Sonuçlar direkt ve klorür katalizli olarak uygun mekanizmalarla açıklanmıştır (Xu ve Jordan, 1990).

Peroksodifosfat ve askorbik asit arasındaki reaksiyon adetat tamponuyla reaktifler varlığında, esas olarak Cu^{+2} ve Fe^{+3} eser metal iyon safsızlıklarıyla katalizlenir. Bakır(II)' nin katalitik aktifliği demir(III)' den 10 kat daha fazladır ve aktivitesi öyle spesifik ve hassastır ki, karışık bir sistemde Cu^{+2} safsızlık miktarı katalizsiz reaksiyonların başlangıç hızlarından hesaplanabilir. Cu(II) varlığında ve olmadan reaksiyonun karakteristiği aynıdır. Cu(II) katalizli reaksiyon için hız denklemi;

$$\frac{-d[H_2A]}{dt} = \frac{[H_2A]_T[Cu^{II}](k_1[H^+] + k_2K_d^{-1} + k_3K_d^{-2}/[H^+])}{(K_d^{-1} + [H^+])} \quad (2.39)$$

Burada K_d^1 ve K_d^2 askorbik asidin disasiyasyon sabiti ve k_1, k_2, k_3 $Cu^{II} + H_2A + HA^-$, C^{II} ve A^{-2} için hız sabitleridir. k_1, k_2, k_3 değerleri $35^\circ C$ ' de ve $I=1,0 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ 27 ± 2 , $(1,24\pm 0,10)\times 10^3$ ve $(1,1\pm 0,08)\times 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ (Mishra vd., 1990).

L-askorbik asidin diaquatetraamin kobalt(III) ile oksidasyon kinetiği pH, askorbik asit konsantrasyonu, iyonik şiddet ve sıcaklığın fonksiyonu olarak durdurulmuş akış tekniğiyle (stopped – flow) çalışılmıştır. Prosesin hızı, her iki redoks çiftine bağlı olarak birinci mertebededir. Askorbat anyonunun oksidasyon hızı $25^\circ C$ ' de,

$$k = (3,42\pm 0,15)\times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}, \Delta H^\# = 81\pm 6 \text{ kJmol}^{-1}, S^\# = 1\pm 20 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

olarak hesaplanmıştır. Elektron transfer için Fuoss'un ve Marcus-Sutin karşılıklı etkileşimi bu redoks işlemi için iyon çifti oluşum sabiti ve $Co(NH_3)_4(H_2O)_4^{2+/3+}$ çifti için değiş tokuşlu hız sabiti hesaplamak için kullanılmıştır (Martinez vd., 1992).

$Cu(II)$ iyon katalizli ve katalizsiz askorbik asit oksidasyonu kinetiği moleküler oksijenle, sitrik asit ve iyonları varlığında $25^\circ C$ ' de çalışılmıştır. pH 2,5-6,0 aralığında bakır iyon katalizli oksidasyonun askorbik aside bağlı olarak birinci mertebeden olduğu bulunmuştur. pH ve bakır iyon konsantrasyonunun reaksiyon hızı üzerine etkisi monoaskorbat iyon ve $Cu(II)$ -sitrat kelat arasında bir geçiş kompleksini içeren mekanizma ileri sürülmüştür. Katalitik yeterlilik $Cu(II) > H_3CiCu^+ > H_2CiCu > CiCu^{-2}$ şeklinde azalmıştır. Ayrıca reaksiyon esnasında hidrojen peroksit saptanmıştır (Şahbaz ve Somer, 1993).

Moleküler oksijen ile bis(histidin)bakır(II) (CuL_2^{2+}) katalizli askorbik asit oksidasyon kinetiği 0,1 M fosfat tamponunda pH 7' de çalışılmıştır. O_2 , askorbat ve CuL_2^{2+} konsantrasyonu arttırarak oksidasyon hızının durumu ve askorbil radikalinin konsantrasyonu izlenmiştir. Vakumda veya oksijen varlığında askorbat konsantrasyonu $< 20 \text{ mM}$ olduğu zaman $Cu(II)$ ' nin redüksiyonu anlamlı değildir. ESR ile askorbatın CuL_2^{2+} ye bağlandığı bulunmuştur ve kararlılık sabiti 20 M^{-1} olarak hesaplanmıştır. Daha önce farklı kişilerce yapılmış çalışmalarda sonuçlarla uyum sağlamayan bulgular açıklanmıştır. Ara ürün olan askorbil radikalinin deneysel konsantrasyonu, önerilen mekanizmadan bulunanla tutarlılık göstermiştir (Scarpa vd., 1996).

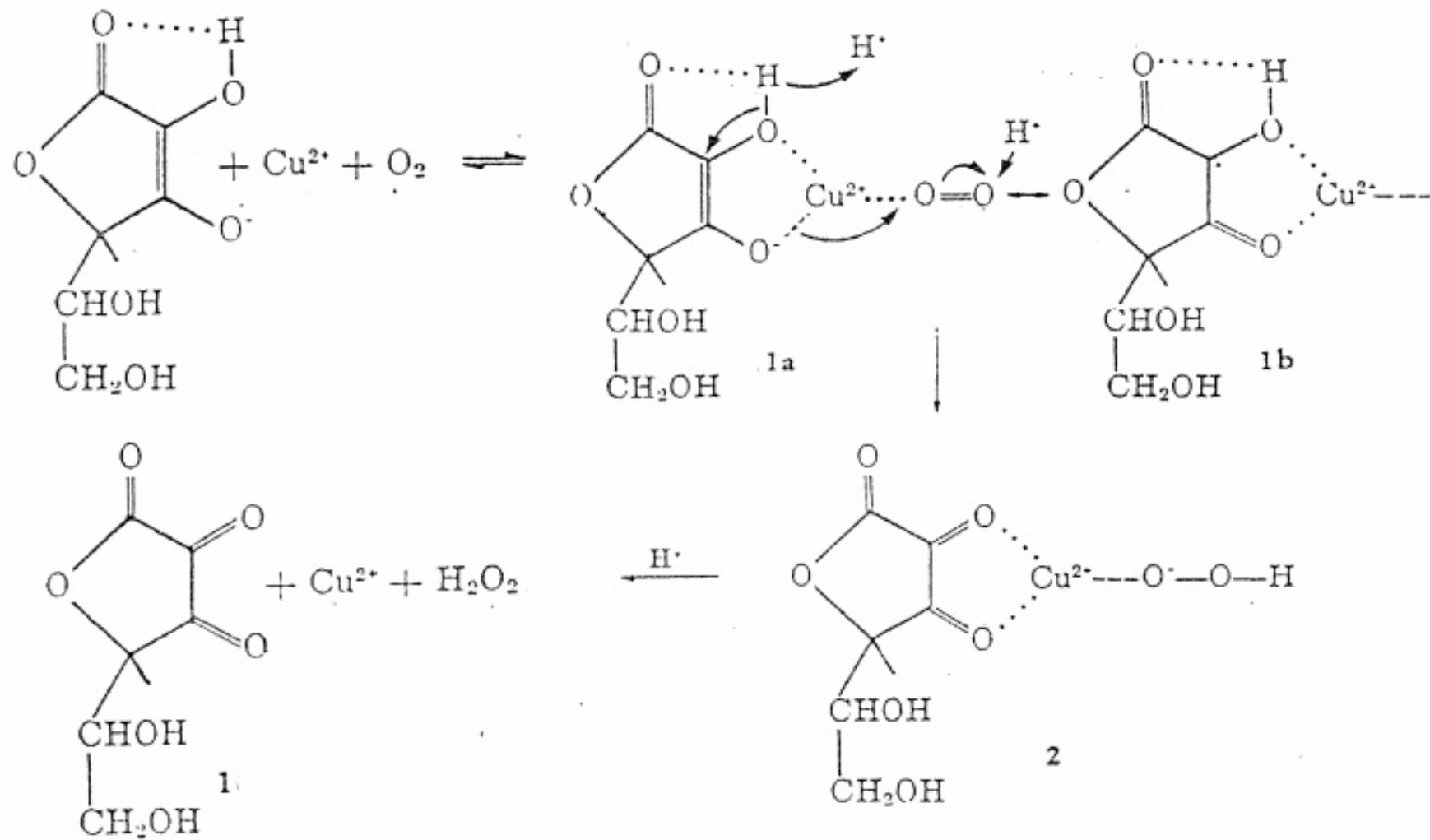
Glutationun (GSH) L-askorbik asidin (AA) bakır katalizli otoksidasyonunu inhibe ettiği biliniyordu, bu çalışmada AA' nın GSH' nin bakır katalizli otoksidasyonunu engellediği bulunmuştur. Otoksidasyonun karşılıklı inhibitasyonu için mekanizma açıklanırken kinetik olarak bu fenomenler incelenmiştir. GSH, Cu^{2+} ile 1:1 kelat oluşturur ve bu suretle AA otoksidasyonunu önler. AA' nın bakır katalizli otoksidasyonu ile hidroksil radikal oluşumu GSH ile doza bağlı olarak gecikmiştir. Çünkü patolojik koşullarda redoks aktif bakır iyonları

ince dokularda serbest kalmıştır. Bakır iyonları, AA ve GSH canlıda beraber bulunabilir; bu durumda GSH, AA otoksidasyonu ile oluşan hidroksil radikallerine inhibitör etkisi yapmıştır (Ohta vd., 2000).

Askorbik asidin Cu(II) iyon katalizli oksidasyonuna pH'ın, Cu(II) iyonu konsantrasyonunun, AA konsantrasyonunun etkilerini asetat ve sitrat tamponlu çözeltilerde, direkt UV spektrofotometrik olarak çalışılmıştır (Ersöz, 2002).

Askorbik asidin Cu(II) iyon katalizli oksidasyonunda tamponların rolü incelenmiştir. Çeşitli tamponlarda reaksiyon hızlarındaki farklılıkların Cu(II) iyonu ile değişik tampon tuzları arasındaki kompleks yeteneğinin farklı olmasından ileri geldiğini belirtmişlerdir. Asetat tamponunda spesifik hız sabitleri pH 3,2-6,0 arasında pH ile ne şekilde arttığını göstermişlerdir (İmer vd., 2003).

Askorbik asidin Cu(II) iyonu katalizli ve katalizsiz oksidasyonuna farklı molekül ağırlıktaki polivinilpirrolidonun etkisi pH 3,3 – 6 aralığındaki asetat tamponlu çözeltilerde 25°C' de incelenmiştir. H₂A konsantrasyonundaki değişmeler direkt UV spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiş, pH' ın, polimerin yapısının ve konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır (Angı, 2005).



Şekil 2.24 Askorbik asidin metal iyonu katalizli oksidasyonu (Seib ve Tolbert, 1989)

2.5.2 Askorbik Asit Tayin Yöntemleri

Askorbik asidin (AA) dehidroaskorbik aside oksidasyonu bir Cu(II)-2,9-dimetil-1,10-fenantrolin(Nc) reaktifi ile amonyum asetatlı ortamda pH 7' de yapılmış ve oluşan bis(Nc)-bakır(I) kelatının absorpsiyonu 450 nm' de ölçülmüştür. Bu kelat hemen oluşmuş ve AA için görünür molar absorptivite $1,60 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak bulunmuştur. $8,0 \times 10^{-6}$ ve $8,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyon aralığında Beer kanununa uyum sağlanmıştır. 90µg AA için relatif standart sapma %3 olarak hesaplanmıştır. Cu(II)-Nc reaktifi aynı tayin için Fe(III) 1,10-fenantrolin reaktifinden daha yavaştır, bu nedenle daha seçici bir oksidandır. Sitrat, okzalit ve tartarat gibi zayıf redüktanlar içeren meyve suları için önerilen metot avantajlıdır. Geliştirilen metot C vitaminini içeren ticari meyve suları, ilaç ve kırmızı şarapta uygulanmıştır. Analizden önce şaraptaki meta-bisüfit pH 3' de bir anyon değiştirici ile kaldırılmış ve şarapta AA tayini için değişik ekstraktif-spektrofotometrik analizler geliştirilmiştir. Böylece şarap antosiyaninleri ve polifenollerinin girişimi engellenmiştir. Güvenilir bir metot olduğunu kanıtlamak için sonuçlar HPLC ile karşılaştırılmıştır (Güçlü vd., 2005).

Alkolsüz içkilerde ve meyve sularında askorbik asidi saptamak için enstrümental metot olarak en çok spektrofotometre kullanılır. UV spektrofotometre hızlı ve basit bir metot olmasına rağmen matris girişimi background absorpsiyonu düzeltilerek çözülebilen bir problem olarak gösterilmiştir. Termal bozulma, katalitik dönüşüm, UV ışık bozulması ve baz davranışları gibi background düzelmesi metotları incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Baz davranışı metodu ticari içkilerde karşılaşılan konsantrasyonlar için en iyisidir. Bu nedenle çalışma parametreleri uygun hale getirilmiş ve analiz üzerine etkisi tartışılmıştır (Fung ve Luk, 1985).

UV spektrofotometre kullanarak alkolsüz içki, meyve suları ve likörlerde askorbik asiti saptamak için bir background düzeltilmesi metodu geliştirilmiştir. Örnek blank, bakır(II) ile asidin katalitik oksidasyonu ile oluşturulmuştur. Bakır(II)' den gelen absorpsiyonu düzeltmek için, oksidasyondan sonra EDTA eklenmiş ve standart çözelti oda sıcaklığında askorbik asit oksidasyonunu katalizlemeyen bakır(II)-EDTA kompleksleri ile aynı konsantrasyondadır. Gerçek örneklerde askorbik asit oksidasyonu 50°C' de gerçekleştirilmiştir, çünkü çalışma sırasında örnekte bulunan sitrik asit bakır(II) katalizli askorbik asit oksidasyonunu yavaşlatmıştır. Absorpsiyon ölçümleri 267 nm' de ve pH 6' da gerçekleştirilmiştir. 0-20 µgmL⁻¹ askorbik asit kalibrasyon grafiği lineerdir. Önerilen metot seçicidir ve içindeki birçok bileşeni alkolsüz içecekler, meyve suları ve likörde girişim yapmaz (Lau vd., 1986).

İlaçlarda askorbik asiti saptamak için basit, hızlı ve kesin bir direkt UV spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Örnek blank oda sıcaklığında asidin bakır(II) katalizli oksidasyonu ile

oluşturmuştur. Absorbans ölçümleri 267 nm’ de ve pH 6’ da yapılmıştır. Metot seçicidir ve genel olarak askorbik asit tabletleri ve multivitamin hazırlamada içinde bulunan diğer maddelerle girişim yapmamıştır. Metot askorbik asidi; C vitamini tabletleri, multivitamin hazırlamada, kalsiyum tabletlerinde saptamak için kullanılmıştır (Lau vd., 1987).

2.5.3 Amino Asit Çalışmaları

Proteinlerin, amino asitlerin ve tuzların askorbik asidin oksidasyonu üzerindeki etkileri in vitro olarak litaretürdeki ilk çalışmalardan biridir. Serumdan elde edilen doğal protein-Cu kompleksleri, askorbik asit oksidasyonunda inhibitör etki göstermekle birlikte, amino asitler ve klorürlerin de benzer etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Mystkowski ve Lasocka, 1939).

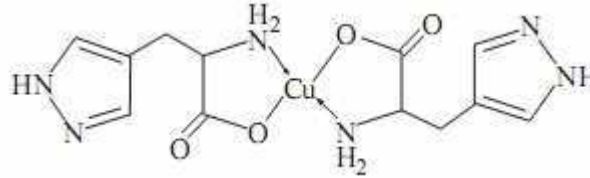
Aspartik asit ve glutamik asit protonlanmış türlerin yapısını açıklamak amacıyla, Cu(II) yanında ligand olarak kullanılmıştır. Bir amino ve iki karboksil grubu bulunan bu iki amino asit, üç dişli ligand olarak hareket eder. 25°C’ de ve iyonik şiddetin 1 M NaClO₄ ile sağlandığı çalışmada, galvanik hücrelerin elektromotor kuvveti geniş konsantrasyon aralığında cam-bakır amalgam elektrod ile ölçülmüştür. Deneysel veriler CuL, CuL₂, CuHL₂, CuH₂L₂, CuH₂L türleri ve CuH₄L₂ aspartat türü için hesaplanmıştır. Bağlı stabilite sabitleri saptanarak glisin ve serin amino asitleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca aspartat protonlanma sabiti, aynı deney koşullarında (25°C ve 1 M NaClO₄) H₂ elektrod kullanılarak da tespit edilmiştir (Bottari vd., 1989).

L-askorbik asit α -amino asitlerle etkileşiminden melanoidin oluşumu incelenmiştir. Bu çalışmada, diyaliz edilemeyen melanoidinler L-askorbik asit – glutamik asit model sisteminden izole edilmiştir. L-askorbik asit – glisin ve L-askorbik asit – L-lizin etkileşimleri arasında karşılaştırma yapılmıştır. Melanoidinin oluşumu üzerindeki reaksiyon parametrelerinin etkileri çalışılmış ve bunların fraksiyonel, spektral özellikleri ile kinetik termodinamik parametreleri tartışılmıştır (Rogacheva vd., 1999).

Cu(II) yanında birincil ligand olarak L-histidin, aspartik asit ve glutamik asit amino asitleri kullanılmıştır. İkincil ligand olarak imidazol, 2-metilimidazol ve 2-etilimidazol bileşiklerinden yararlanılarak üçlü kompleks oluşumu çalışılmıştır. L-histidin, 3. pozisyonundaki amin azotu ve karboksilat grubundan metal iyonlarını bağlar. Aspartik ve glutamik asit amino asitlerinin her ikisinde de üç potansiyel koordinesitesi vardır (amin azotu ve iki karboksilat grubu). Çoğu durumlarda aspartat üç dişli ligand olarak hareket eder. Glutamatın ise uzun zinciri ile iki ya da üç dişli ligand olarak hareket ettiği rapor edilmiştir.

Çalışmada sulu ortamda potansiyometrik yöntem uygulanmıştır. Amino asitlerle oluşturulan üçlü komplekslerin kararlılığı $\text{aspA} \geq \text{glutA} > \text{L-histidin}$ sırasını izlerken, imidazol üçlü komplekslerinin kararlılık sırası $2\text{-metilimidazol} \geq 2\text{-etilimidazol} > \text{imidazol}$ şeklindedir. Bu sıralamalar elektronik ve moleküler yapılarına dayanarak açıklanmıştır. Üçlü kompleksler, biyolojik proseslerde önemli rol oynamaktadır. Metal iyonları tarafından aktive edilen birçok enzim buna örnek verilmiştir. Hayvanlar ve bitkiler için önemli bir eser element olan Cu, birçok biyolojik işlemdeki karışık ligand komplekslerinin oluşumuna örnek gösterilmiştir. Çalışmada spektral ölçümler UV-VIS spektrometre yöntemiyle alınmıştır. Tüm sulu çözeltiler için pH 7' de çalışılmıştır. Potansiyometrik titrasyon için sıcaklık 30, 40, 50°C' de tutulmuş ve iyonik şiddet 0,1 M NaClO_4 ile korunmuştur (Pandeya vd., 1991).

İnsan plazmasının histidin ile diyalizine takiben elde edilen Cu(II)-histidin kompleksi değişik tipte ekstraksiyon sistemleri ve iyon değiştirici reçineler kullanılarak incelenmiştir. Kompleksin olası $\text{Cu}(\text{His})_2$ yapısı Şekil 2.25 de görülmektedir (Venelinov vd., 2006).



Şekil 2.25 Bakır(II)-histidin kompleksinin yapısı

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pyogenes* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı, L-alanin, L-arjinin, L-histidin, L-lizin, L-prolin ve L-threonin amino asitlerinin bakır komplekslerinin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. L-alanin, L-prolin ve L-threonin bakır komplekslerinin *Streptococcus pyogenes* bakterisine karşı antibakteriyel özellikleri neredeyse amfisilin kadar etkili bulunmuştur. Bu üç amino asitin karışık kompleksleri de benzer etkileri göstermiştir. Ayrıca diğer amino asit – bakır kompleksleri de çalışılan üç bakteri türüne karşı önemli kapsamda etkinlik göstermiştir (Iqbal vd., 1990).

Sulu çözeltilerde Cu(II)-glisin etkileşmesinin kinetiği incelenmiş ve Cu(II)-glisin kompleksinin oluşum hız sabitleri saptanmıştır. Cu – hidroksi türlerinin oluşumunu önlemek amacıyla ölçümler orta şiddetli asit çözeltilerinde alınmıştır. Çalışılan pH' de amfolit iyonun baskın tür olmasına rağmen, milisaniye düzeyinde relaksasyon zamanları metal iyonu ve serbest anyon arasındaki reaksiyonlar için yorumlanmıştır. 25°C sıcaklıkta ve 0,1 M iyonik şiddette (KNO_3) altında glisin ile yapılan mono ve bis komplekslerin hız sabitleri 4×10^9 ve $4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bulunan hız sabitleri büyük olmasına rağmen Eigen Tamm'ın metal komplekslerinin oluşumu mekanizmasıyla uyumlu olduğu saptanmıştır. Çünkü

reaksiyonda hızı belirleyen basamak metal iyonunun iç hidrasyon küresinden su molekülünün salındığı adımdır. Tek moleküllü ligandların Cu iyonunun iç hidrasyon küresine nüfuz etme basamaklarının hız sabitleri sırasıyla 2×10^9 ve $5 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ olarak tahmin edilmiştir (Pearlmutter vd., 1968).

Düşük kalorili yapay tatlandırıcı olarak meyve suları ve ilaçlarda kullanılan, bir dipeptit olan aspartamın (aspartilfenilalanin metil esteri), askorbik asidin bakır ve demir katalizli oksidasyonuna etkisi, pH 3,2 – 5,6 arasında CUPRAC yöntemi ile çalışılmıştır (Yıldıoğan, 2006).

2.5.4 Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi

Antioksidanların kimyasal çeşitliliği bunların sebzelerden ayrılması ve miktar tayinlerini güçleştirmektedir. Bundan dolayı total antioksidan aktivite seviyesini ölçebilecek yeni bir metot gerekmektedir. Bugünkü literatürde, standart kantitatif metotların kısıtlılığı nedeniyle besinlerde uygun hiçbir total antioksidan beslenme indeksi olmadığı görülmektedir. Sonuç olarak bu çalışma kromogenik oksidasyon ajanı olarak bakır(II)-neocuproine [Cu(II)-Nc] kullanılmasıyla C ve E vitaminleri ile diet polifenollere ait uygulanabilir bir antioksidasyon kapasite indeksi metodu geliştirilmiştir. Bu metot, bakır(II) ya da bakır iyonlarının polifenollerini redükleme yeteneğini ölçtüğü için, yukarıdaki çalışma grubunca “cupric reducing antioxidant capacity”, kısaltılmış CUPRAC metot olarak adlandırılmıştır. Bu metot “ferric reducing antioxidant power”, kısaltılmış FRAP metoduna avantaj sağlar. Çünkü bakır redoks kimyası, demirinkinin tersine daha hızlı bir kinetiğe sahiptir. Bu metotta antioksidan çözeltisi doğrudan ya da asit hidrolizinden sonra, bir CuCl_2 çözeltisi, bir Nc alkollü çözeltisi ve amonyum asetat sulu tampon çözeltisi pH = 7 ile karıştırılır. 30 dakika sonra absorbans 450 nm’ de ölçülür. Askorbik asit, gallik asit ve quercetin için renk oluşumu hızlı iken, narangin ve narangenin için yavaştır. Bu son bileşikler 50°C ’ de su banyosunda Cu(II)-Nc reaktifi ilavesinden sonra 20 dakika bekletildikten sonra, oksidasyon reaksiyonunun tamamlanması için denemiştir (Apak vd., 2004).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kullanılan Maddeler

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, firmaları ve katalog numaraları

Madde	Firma	Katalog No
Askorbik Asit	E.Merck Darmstadt	500074
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	E.Merck Darmstadt	2763
KNO_3	E.Merck Darmstadt	5063
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	E.Merck Darmstadt	2733
$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	E.Merck Darmstadt	1116
Asetik Asit	E.Merck Darmstadt	818755
Sodyum Asetat	E.Merck Darmstadt	6268
HNO_3	E.Merck Darmstadt	441
KOH	E.Merck Darmstadt	5021
Histidin	E.Merck Darmstadt	4351
Aspartik asit	Sigma Aldrich	A9,310-0
Asparajin	Sigma Aldrich	A9,300-3
Alanin	Sigma Aldrich	A2,680-2
Fenilalanin	Sigma Aldrich	P1,700-8
Neocuproine	Sigma Aldrich	N1501-5G
Glisin	Fluka	50049
Glutamik asitxHCl	Fluka	49569
Glutamin	Serva	22930

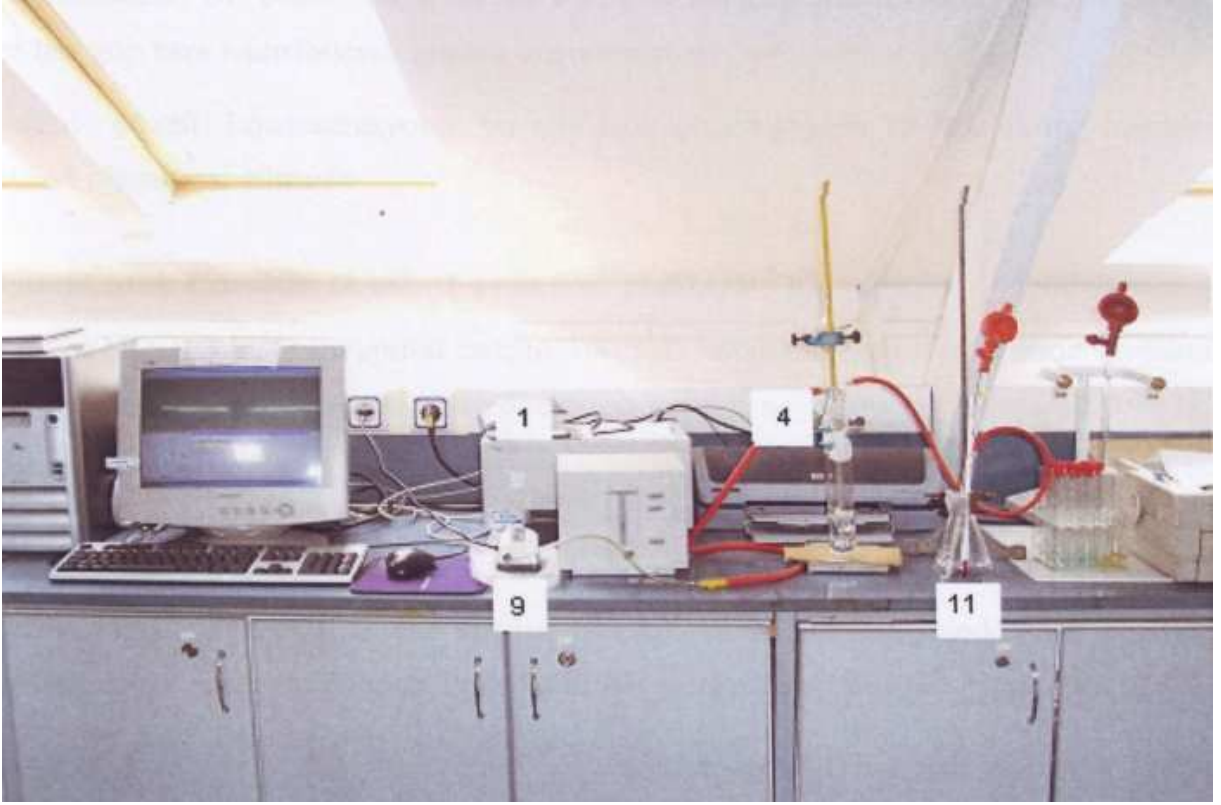
Standart Tampon Çözeltiler

pH 4,00 Biftalat tamponu Metrohm firması ürünü

pH 7,00 Fosfat tamponu Metrohm firması ürünü

3.2 Araç ve Gereçler

1. Spektrofotometre AGİLENT 8453 (UV – Visible)
2. 1 cm' lik Kuvartz Küvetler 1.000 cm ışık yolu
3. Analitik Terazisi SARTORIUS BASIC (0,0001 g)
4. Yazıcı HP DESKJET 3650
5. Su Arıtma Cihazı KATTERMANN D 3165
6. pH-metre METROHM 632
7. Cam Elektrot METROHM AG CH – 9100
8. Termostat Sistem THERMOMIX 1419 B BRAUN Model
9. Hava Pompası RAMBO EP – 3500 Hi – Tec and Stil / Powerful Air Pump
10. Kronometre
11. Reaksiyon Kabı



Şekil 3.1 Deney düzeneği

3.3 Çözeltiler

Askorbik Asit Stok Çözeltisi ($1000\mu\text{g.mL}^{-1}$; $5,67 \times 10^{-3}\text{M}$)

Askorbik asitten 100mg tartılıp 100 mL hacimli balon jojede su ile çözülüp, gerekli hacme tamamlanır. Bu çözeltinin 1 mL' si 1 ppm' e karşılık gelmektedir. Askorbik asit stok çözeltisi her gün taze hazırlanarak ışıktan korunmuştur.

Denemelerde çözelti konsantrasyonu; bu ana stok çözeltisinden 10 mL alınıp, seyreltilerek $5,67 \times 10^{-4}\text{M}$ olarak çalışılmıştır.

Bakır Nitrat Stok Çözeltisi (1 mL = 1 ppm Cu^{2+} ; $1.57 \times 10^{-4}\text{M}$)

0,3802 g $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tuzundan tartılıp 100 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür. Denemelerde Cu^{2+} konsantrasyonu bu çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak $0,785 \times 10^{-7} - 6,28 \times 10^{-7}\text{M}$ olarak çalışılmıştır.

Bakır(II)Klorür Stok Çözeltisi (10^{-2}M)

0,08524 g CuCl_2 tuzundan tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Neocuproine Stok Çözeltisi ($7,5 \times 10^{-3}\text{M}$)

0,039 g neocuproine reaktifinden tartılıp 25 mL hacimli balon jojede %96'lık etanolde çözülmüştür. Bakır(II)-neocuproine çözeltisi her gün taze hazırlanarak ışıktan korunmuştur.

Amonyum Asetat Stok Çözeltisi (1 M)

3,854 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tuzundan tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Aspartik Asit Stok Çözeltisi (10^{-2}M)

0,0665 g Aspartik asit tartılıp 50 mL hacimli balon jojede HNO_3 ' te çözülmüştür. pH 4,5'a ayarlanmak için üzerine KOH eklenmiştir.

Asparajin Stok Çözeltisi (10^{-2}M)

0,066 g Asparajin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Glisin Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,03753 g Glisin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Glutamik Asit Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,0918 g Glutamik Asit.HCl tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür. pH 4,5'a ayarlanmak için üzerine KOH eklenmiştir.

Glutamin Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,0731 g Glutamin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Alanin Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,0445 g Alanin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Fenilalanin Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,0826 g Fenilalanin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Histidin Stok Çözeltisi (10^{-2} M)

0,07758 g Histidin tartılıp 50 mL hacimli balon jojede suda çözülmüştür.

Tüm amino asit çözeltileri, her gün taze olarak hazırlanmıştır.

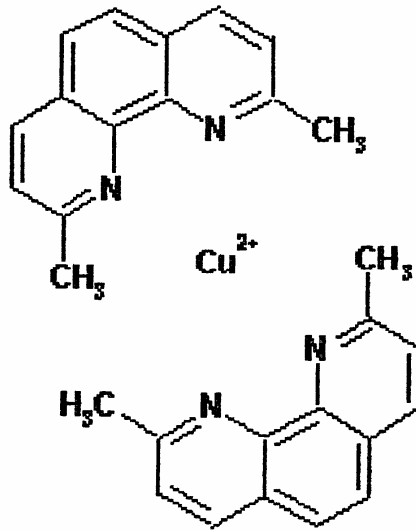
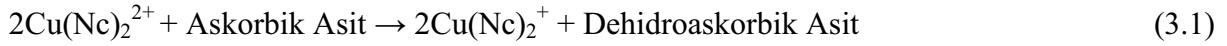
Tampon Çözelti (0,01 M Asetat Tamponu, pH=4,5)

Litresinde 0,3173 g sodyum asetat ve 0,3516 mL glacial asetik asit içeren tampon çözelti hazırlanmıştır.

3.4 Yöntem

Kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, ayrıca bir saflaştırma yapılmadan kullanıldı. Cu(II) – Nc reaktifi AA tayini yapmak için kullanıldı. Katalizör olarak bakır yanında aspartik asit, asparajin, glutamik asit, glutamin, glisin, alanin, fenilalanin, histidin ve pH'si 4,5 olan tampon çözelti kullanıldı. Asetat tamponu (0,01 M) HSIEH'e göre hazırlandı (Hsieh ve Haris, 1993). Bütün çözeltiler hazırlanırken ve seyreltilirken deiyonize destile su kullanıldı.

Spektrofotometrik askorbik asit tayin yöntemi; AA'nın bir Cu(II)-2,9 dimetil-1,10fenantrolin (neocuproine Nc) reaktifi ile pH 7 de amonyum asetatlı ortamda dehidroaskorbik aside oksidasyonuna dayanır. Oluşan bis(Nc)-bakır kelatının (Şekil 3.2) absorbansı 450 nm' de ölçülür (Güçlü vd., 2005).



Şekil 3.2 Bis(Nc)-bakır kelatı

Absorbans, Agilent 8453 UV-Visible spektrofotometre ile kalınlığı 1 cm olan kuvarz küvetlerle ölçüldü. pH ölçümleri kombine bir pH elektrot ile yapıldı. Kinetik işlemlerde aktivite katsayısını sabit tutmak için iyonik şiddet, $I=0,1$ M olacak şekilde KNO_3 ile ayarlandı. Bütün deneyler 25°C ' de ve sıcaklığı kontrol edilen ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) termostat sistemi içinde gerçekleştirildi.

3.4.1 Örnek Hazırlanması ve Kinetik Ölçümler

Cu(II)-Nc reaktifi ile AA tayini yapmak için; deney tüpleri içine sırasıyla 1 mL 10^{-2} M'lık CuCl_2 , 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M Nc ve 1 mL 1 M'lık $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ çözeltisinden konularak tüplerin ağzı kapatıldı ve ölçümler için hazır hale getirildi.

100 mL' lik balon joje içine 0,1 M KNO_3 , 0,0015 M tampon, çalışılacak konsantrasyonu ($0,785 \times 10^{-7} - 6,28 \times 10^{-7}$ M) elde edecek şekilde $1,57 \times 10^{-5}$ M'lık stok bakır nitrat çözeltisi, çalışılacak konsantrasyonu ($10^{-4} - 2 \times 10^{-3}$ M) elde edecek şekilde 10^{-2} M'lık amino asit (8 adet farklı kimyasal yapılı) çözeltisi ilave edildi. Karışıma hızla konsantrasyonu $5,67 \times 10^{-4}$ M olacak şekilde askorbik asit stok çözeltisinden 10 mL ilave edilerek kronometre başlatıldı.

Başlangıçta reaksiyon karışımından 0,6 mL alınıp Cu(II)-Nc karışımı bulunan tüpe kondu, üzerine 1,4 mL su ilave edilerek iyice karıştırıldı; kompleks oluşumu için 2 dakika bekletildi. Küvetler çözelti ile yıkandıktan sonra, örneklerin 450 nm’ de askorbik asit içermeyen blanke karşı absorbansları okundu. Reaksiyon çözeltisi, sıcaklığı 25°C’ de bulunan erlenmayere alındı. Reaksiyon süresince çözeltiden akış hızı 60 L/saat olan hava oksijeni geçirildi. Hava akımı önce bir su dolu yıkama şişesinden geçirilerek su buharıyla doyuruldu. Reaksiyon hızı oksijenin çözünme hızına göre düşük olduğu için, reaksiyon çözeltisinin oksijenle doyurulmuş olduğu kabul edildi. Belli zaman aralıklarında, yaklaşık 5 dakika, reaksiyon karışımından örnekler alınarak absorbansı okundu. Elde edilen pikler spektrofotometrede üst üste karşılaştırıldı (Şekil 4.1). İzlenen her reaksiyon periyodu (30 dak.) sonunda çalışma çözeltisinin pH değeri ölçülerek kontrol edildi. Deneyler üç kez tekrarlandı ve sonuçlar ortalama olarak verildi.

3.4.2 AA Saptama Prosedürü

Bir deney tüpü içine sırasıyla 1 mL Cu(II), 1 mL Nc, son pH’ı 7’ye getirmek için 1 mL amonyum asetat, (2-x) mL su ve x; 0,6 mL AA çözeltisi eklendi. İki dakika sonra 450 nm’ de blanke karşı absorbans okundu. Amino asit varlığında ve yokken bakır(II) katalizli AA otoksidasyonundaki konsantrasyon değişimleri bu yolla izlendi.

4. SONUÇLAR

4.1 Kinetik Çalışmalar

4.1.1 Teorik Yaklaşım

Askorbik asidin pKa değerleri 4,1 ve 11,79' dur (Weast, 1982). pH 3,2 – 4,5 arasında çözeltide bulunan başlıca türler, askorbik asidin dissosiyasyon olmamış (H_2A) ve monoiyonik (HA^-) şekilleridir. $Cu(NO_3)_2$ katalizör olarak kullanılmıştır, çünkü bakır inorganik anyonlar arasında nitrat ile daha az stabil kompleks verir. Sülfat ve klorür bakır ile daha stabil kompleksler oluşturur, bunların hepsi de nispeten zayıftır.

H_2A 'nın oldukça fazla miktarda oksijen ile (doygunluk hali) bakır katalizli oksidasyonu, birinci derece reaksiyon kinetiğini izler (Khan ve Martell, 1967 a, b; Ogata vd., 1968).

Reaksiyon hızı şöyle ifade edilir;

$$\frac{d[H_2A]}{dt} = k[H_2A] \quad (450 \text{ nm deki } Cu(II)\text{-Nc absorpsansı ile orantılıdır. Şekil 4.1)} \quad (4.1)$$

Burada;

$[H_2A]$ = Askorbik asit konsantrasyonu (mol.L^{-1})

t = Reaksiyon süresi (dak.)

k = Birinci dereceden hız sabiti (dak^{-1})

Askorbik asidin $Cu(II)$ -Neocuproine(Nc) reaktifi ile oluşturduğu bis(Nc)-bakır kelatının (Şekil 3.2), 450 nm dalga boyunda yapılan absorpsans ölçümlerinden Log.Absorpsansın zamana karşı çizilen grafiği bir doğru verdiğinden;

Eğim; $-k/2,303$ ' e eşittir.

4.1.2 Katalizörsüz ve Bakır(II) İyon Katalizli Oksidasyon

Katalizörsüz ve $Cu(II)$ iyon katalizli askorbik asit ($5,67 \times 10^{-4}$ M) oksidasyonu 25°C ' de ve iyonik şiddet $I = 0,1$ M olacak şekilde ($0; 0,785; 1,57; 3,14; 4,71; 6,28$) $\times 10^{-7}$ M bakır iyonları varlığında gerçekleştirildi ve neocuproine belirteci kullanılarak spektroskopik AA tayini yapıldı. Reaksiyon pH 4,5 da asetat tamponlu amino asit çözeltileri (10^{-4} - 2×10^{-3} M) varlığında veya aminoasit bulunmadan 30 dakika boyunca izlendi (Yalnız histidin için 5×10^{-4}

M konsantrasyon üzerinde çalışılmadı, çünkü diğer amino asitlere göre en fazla etkiyi gösterdi). Bir saat boyunca izlenen reaksiyonda, bakır katalizör olmadan askorbik asidin yalnızca %1,5' nin okside olduğu bulundu. Birinci derece hız sabitleri lineer regrasyon analiz ile bulundu. Askorbik asidin zaman içinde geçiş metal katalizli oksidasyonu, katalizlenmemiş reaksiyon için bir denkleştirme ile değerlendirildi. pH 4,5 için, bakır iyonlarının konsantrasyonunun artmasıyla hızın arttığı gözlemlendi. Asetat tamponunda aminoasit çözeltileri varlığında ve yokluğunda askorbik asit oksidasyonu ile ilgili Log Absorbansa karşı Zaman (dak.) eğrilerinin kinetik verileri Çizelge 4.1 – 4.18 ve Şekil 4.2 – 4.41' de verilmiştir.

4.1.3 Askorbik Asit Oksidasyonunun Reaksiyon Hızı Üzerine Cu(II) İyon Konsantrasyonu Etkisi

Cu(II) iyon varlığında ve yokluğunda birinci mertebeden hız sabitleri arasındaki fark, hız karakteristiği olarak alındı (k_d). Asetat tamponlu veya asetat tamponlu aminoasit çözeltisi varlığında, pH 4,5 da toplam Cu(II) konsantrasyonuna göre $K[Cu(II)]$ karşılık olan fark hız sabitleri (k_d) değişimi Şekil 4.42 – 4.49' da verildi. k_d ile Cu(II) konsantrasyonu arasında çizilen grafikten lineer regrasyon analiziyle spesifik hız sabitleri, K , bulundu (Çizelge 4.19).

Asetat tamponlu amino asit çözeltilerinde Cu(II) iyon katalizli askorbik asit oksidasyonunun spesifik hız sabitleri, K , aminoasit bulunmayan reaksiyona göre daha düşük bulundu (Çizelge 4.19).

4.1.4 Amino Asit Varlığında Cu(II) İyon Katalizli Askorbik Asit Oksidasyonu

Askorbik asidin, farklı amino asit ve Cu(II) iyon konsantrasyonlarında, pH 4,5 da çalışılan oksidasyon reaksiyonlarının Log.Abs.-zaman grafiklerinden bulunan hız sabitleri;

1. Düz zincirli amino asitler; alanin ve glisin için Çizelge 4.9 ve 4.13'de
2. Asidik amino asitler; aspartik asit ve glutamik asit için Çizelge 4.11 ve 4.14'de ve bunların mono amidleri olan, asparajin ve glutamin için Çizelge 4.10 ve 4.15'de
3. Halkalı grup içeren amino asitler; fenilalanin ve histidin için Çizelge 4.12 ve 4.16'da verilmiştir.

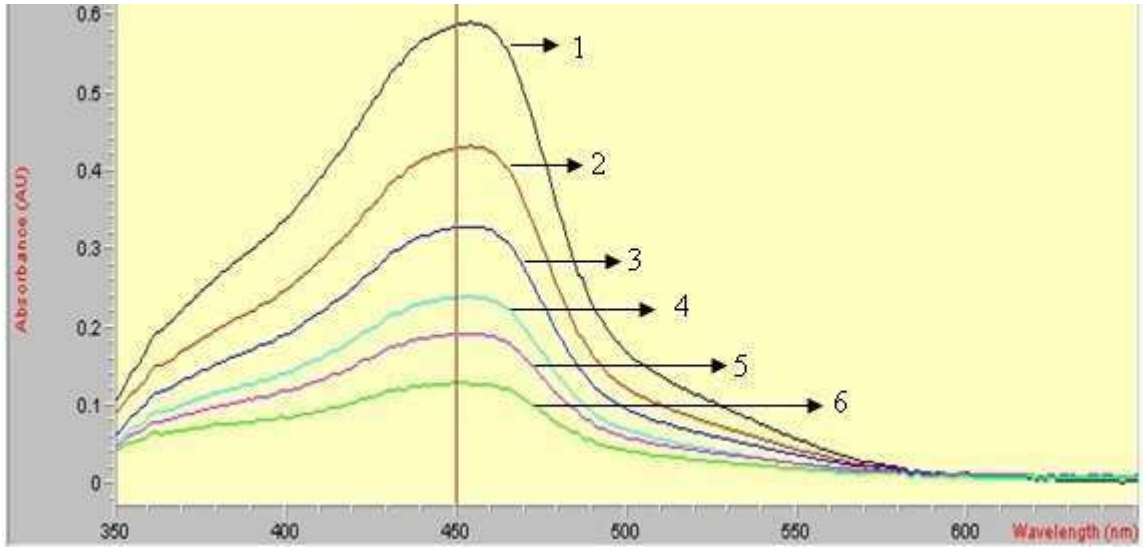
pH 4,5 da Cu(II) amino asit katalizli reaksiyonlar için spesifik hız sabitleri, K , Çizelge 4.19 da verildi. Tabloda verilen hız sabitleri Şekil 4.42, 4.43, 4.44, 4.45, 4.46, 4.47, 4.48, 4.49' daki

doğruların eğimlerinden bulundu. Çizelgeye göre amino asit konsantrasyonlarının artmasıyla, spesifik hız sabitlerinde (K), belirgin bir düşme gözlemlendi.

4.1.5 Amino Asit Varlığında Cu(II) Katalizli AA Oksidasyonunun Genel Özellikleri

Askorbik asidin oksidasyon hızı üzerine bakır iyon konsantrasyonu, amino asit yapısı ve konsantrasyonu etkisi şöyle özetlenebilir:

- Cu(II) iyon konsantrasyonu attırıldığında reaksiyon hızları da artmıştır (Şekil 4.2-4.41).
- Farklı amino asit ve Cu(II) konsantrasyonlarında, amino asit konsantrasyonunun artmasıyla oksidasyon hızının azaldığı gözlenmiştir. Özellikle yüksek amino asit konsantrasyonlarında (10^{-3} , 2×10^{-3} M) bu azalma daha belirgindir.
- Bakır katalizli oksidasyonda amino asit konsantrasyonunun arttırılmasıyla spesifik hız sabitleri, K, azalmıştır.
- Glutamik asit ile glutamin ve aspartik asit ile asparajin etkileri arasında dikkate değer fark gözlenmedi.
- Fenilalanin reaksiyon hızını, alanine göre daha fazla düşürmüştür (Çizelge 4.9 ve 4.12). Spesifik hız sabitlerinde azalma fenilalaninde daha fazladır (Çizelge 4.19).
- Glisin ile alanin arasında önemli bir fark izlenmedi (Çizelge 4.9 ve 4.13).
- Histidin, konsantrasyonu arttıkça reaksiyon hızını izlenemeyecek kadar çok azalttı ve üst konsantrasyonlar ($10^{-3} - 2 \times 10^{-3}$ M) çalışılamadı.
- Aspartik asidin konsantrasyonunun artması ile reaksiyon hızı glutamik aside göre daha düşük bulundu (Çizelge 4.11 ve 4.14). Spesifik K değerleri de aynı şekilde değişti (Çizelge 4.19).



#	Name	Abs<450nm>
1	2 dak.	0.58512
2	5 dak.	0.42865
3	10 dak.	0.32700
4	15 dak.	0.23743
5	20 dak.	0.19066
6	30 dak.	0.12790

Şekil 4.1 450 nm' de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait örnek spektrum ve absorbans değerleri

Çizelge 4.1 Farklı alanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Ala] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Ala] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Ala] (M)	t (dak.)	Abs
0,785x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,777	3,14x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,617	6,28x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,693
		5	0,732			5	0,505			5	0,513
		10	0,654			10	0,374			10	0,414
		15	0,580			15	0,307			15	0,236
		20	0,523			20	0,248			20	0,168
		30	0,419			30	0,186			30	0,117
	5x10 ⁻⁴	2	0,860		5x10 ⁻⁴	2	0,648		5x10 ⁻⁴	2	0,700
		5	0,810			5	0,529			5	0,549
		10	0,833			10	0,411			10	0,409
		20	0,677			15	0,360			15	0,288
		30	0,503			20	0,286			20	0,204
						30	0,218			30	0,144
	1x10 ⁻³	2	0,854		1x10 ⁻³	2	0,662		1x10 ⁻³	2	0,744
		5	0,989			5	0,595			5	0,594
		10	0,750			10	0,480			10	0,465
		15	0,693			15	0,415			15	0,337
		20	0,615			20	0,339			20	0,253
		30	0,598			30	0,254			30	0,169
	2x10 ⁻³	2	0,856		2x10 ⁻³	2	0,664		2x10 ⁻³	2	0,713
		5	0,824			5	0,587			5	0,658
		10	0,799			10	0,550			10	0,501
		20	0,643			20	0,395			15	0,367
		30	0,604			30	0,345			20	0,340
										30	0,191
1,57x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,750	4,71x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,740				
		5	0,676			5	0,678				
		10	0,544			10	0,418				
		15	0,487			15	0,363				
		20	0,387			20	0,240				
		30	0,319			30	0,173				
	5x10 ⁻⁴	2	0,817		5x10 ⁻⁴	2	0,839				
		5	0,690			5	0,643				
		10	0,605			10	0,538				
		15	0,494			15	0,399				
		20	0,458			20	0,285				
		30	0,359			30	0,196				
	1x10 ⁻³	2	0,774		1x10 ⁻³	2	0,778				
		5	0,688			5	0,674				
		10	0,608			10	0,510				
		15	0,569			15	0,405				
		20	0,441			20	0,311				
		30	0,409			30	0,216				
	2x10 ⁻³	2	0,802		2x10 ⁻³	2	0,630				
		5	0,735			5	0,545				
		10	0,679			10	0,452				
		15	0,654			20	0,317				
		20	0,553			30	0,231				
		30	0,463								

Çizelge 4.2 Farklı asparajın ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Asn] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Asn] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Asn] (M)	t (dak.)	Abs
$0,785 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,650	$3,14 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,809	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,752
		5	0,545			5	0,771			5	0,623
		10	0,557			10	0,576			10	0,381
		15	0,472			15	0,369			15	0,259
		20	0,482			20	0,369			20	0,173
		30	0,443			30	0,325			30	0,173
	5×10^{-4}	2	0,628		5×10^{-4}	2	0,883		5×10^{-4}	2	0,825
		5	0,648			5	0,761			5	0,655
		10	0,583			10	0,639			10	0,529
		15	0,539			15	0,541			15	0,348
		20	0,514			20	0,509			20	0,313
		30	0,514			30	0,404			30	0,207
	1×10^{-3}	2	0,625		1×10^{-3}	2	0,860		1×10^{-3}	2	0,869
		5	0,622			5	0,796			5	0,749
		10	0,604			10	0,711			10	0,627
		15	0,592			15	0,634			15	0,672
		19	0,582			30	0,510			20	0,452
		23	0,571			2	0,867			30	0,327
	2×10^{-3}	2	0,651		2×10^{-3}	2	0,867		2×10^{-3}	2	0,859
		5	0,649			5	0,829			5	0,891
		20	0,620			10	0,759			10	0,791
		30	0,617			15	0,742			15	0,692
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,796	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	20	0,703	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	20	0,572
		5	0,739			30	0,618			30	0,495
		10	0,682			2	0,607				
		15	0,535			5	0,535				
		20	0,489			10	0,396				
	5×10^{-4}	30	0,440			15	0,297				
		2	0,831			20	0,235				
		5	0,773			30	0,179				
		10	0,737			2	0,655				
		15	0,642			5	0,609				
	1×10^{-3}	20	0,604			10	0,494				
		5	0,993			15	0,433				
		10	0,857			20	0,355				
		15	0,849			30	0,270				
		20	0,685			2	0,663				
	2×10^{-3}	30	0,682			5	0,650				
		2	0,889			10	0,647				
		5	0,831			15	0,513				
		10	0,805			20	0,446				
		15	0,756			30	0,348				
		20	0,749			2	0,836				
		30	0,720			5	0,779				
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	10	0,718	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	10	0,718	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	10	0,718
		15	0,689			15	0,689			15	0,689
		20	0,649			20	0,649			20	0,649
		30	0,567			30	0,567			30	0,567
	5×10^{-4}	2	0,809			2	0,809			2	0,809
		5	0,771			5	0,771			5	0,771
		10	0,576			10	0,576			10	0,576
		15	0,369			15	0,369			15	0,369
		20	0,369			20	0,369			20	0,369
	1×10^{-3}	30	0,325			30	0,325			30	0,325
		2	0,883			2	0,883			2	0,883
		5	0,761			5	0,761			5	0,761
		10	0,639			10	0,639			10	0,639
		15	0,541			15	0,541			15	0,541
	2×10^{-3}	20	0,509			20	0,509			20	0,509
		30	0,404			30	0,404			30	0,404
		2	0,860			2	0,860			2	0,860
		5	0,796			5	0,796			5	0,796
		10	0,711			10	0,711			10	0,711

Çizelge 4.3 Farklı aspartik asit ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Asp] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Asp] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Asp] (M)	t (dak.)	Abs
$0,785 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,834	$3,14 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,781	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,687
		5	0,755			8	0,595			5	0,719
		10	0,688			15	0,430			10	0,295
		15	0,581			25	0,288			15	0,219
		30	0,515			35	0,240			20	0,179
		2	0,925			2	0,793			30	0,140
	5×10^{-4}	5	0,784		5×10^{-4}	8	0,590		5×10^{-4}	2	0,819
		15	0,712			15	0,536			5	0,593
		20	0,662			25	0,414			10	0,581
		30	0,633			35	0,339			15	0,322
		5	0,973			2	0,810			20	0,275
		10	0,786			8	0,695			30	0,193
	1×10^{-3}	15	0,778		1×10^{-3}	13	0,640		1×10^{-3}	2	0,787
		20	0,713			18	0,479			5	0,713
		30	0,699			23	0,533			10	0,565
		2	0,872			2	0,823			15	0,465
		5	0,861			8	0,741			20	0,424
		15	0,801		2×10^{-3}	12	0,736		2×10^{-3}	30	0,282
	2×10^{-3}	20	0,774			17	0,685			2	1,126
		27	0,738			21	0,663			5	0,788
		33	0,703			26	0,617			10	0,667
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,751	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,710		2×10^{-3}	15	0,641
		5	0,637			5	0,630			20	0,613
		10	0,593			10	0,502			30	0,440
		20	0,439			15	0,302				
		35	0,307			20	0,266				
		2	0,825			30	0,184				
	5×10^{-4}	8	0,700		5×10^{-4}	2	0,770				
		15	0,641			5	0,714				
		25	0,538			10	0,572				
		2	0,813			15	0,461				
		5	0,768			20	0,405				
		10	0,715			30	0,274				
	1×10^{-3}	15	0,700		1×10^{-3}	2	0,800				
		20	0,599			5	0,691				
		30	0,549			10	0,644				
		2	0,860			15	0,502				
		10	0,784			20	0,443				
		15	0,715			30	0,359				
	2×10^{-3}	20	0,686		2×10^{-3}	2	0,766				
		30	0,641			5	0,762				
						15	0,609				
						20	0,555				
						27	0,477				

Çizelge 4.4 Farklı fenilalanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Phe] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Phe] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Phe] (M)	t (dak.)	Abs
$0,785 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,743	$3,14 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,755	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,640
		5	0,688			5	0,575			5	0,522
		15	0,558			10	0,489			10	0,267
		20	0,509			15	0,314			15	0,208
		30	0,541			20	0,302			20	0,182
	5×10^{-4}	2	0,803		5×10^{-4}	30	0,206			30	0,151
		5	0,716			2	0,726		5×10^{-4}	2	0,717
		15	0,672			5	0,611			5	0,610
		20	0,592			10	0,638			10	0,505
		30	0,570			15	0,463			15	0,315
	1×10^{-3}	2	0,791		1×10^{-3}	20	0,420			20	0,278
		5	0,746			30	0,345			30	0,259
		20	0,639			2	0,776		1×10^{-3}	2	0,739
		30	0,598			5	0,690			5	0,677
	2×10^{-3}	2	0,779		2×10^{-3}	10	0,593			10	0,722
		5	0,787			20	0,505			15	0,577
		20	0,755			30	0,419			20	0,402
		30	0,729			2	0,781			30	0,345
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,870		2×10^{-3}	5	0,731		2×10^{-3}	2	0,772
		5	0,765			10	0,672			5	0,703
		10	0,581			20	0,597			10	0,666
		15	0,547		1×10^{-4}	2	0,720			15	0,579
		30	0,410			5	0,527			20	0,544
	5×10^{-4}	2	0,791			10	0,343			30	0,397
		5	0,717			15	0,273		5×10^{-4}	2	0,753
		10	0,656			20	0,225			5	0,599
		15	0,655			30	0,179			10	0,527
		20	0,529			2	0,753			15	0,484
		30	0,487			5	0,599			20	0,344
	1×10^{-3}	2	0,810			10	0,343			30	0,293
		5	0,744		5×10^{-4}	20	0,225			2	0,801
		10	0,699			5	0,527			5	0,662
		15	0,613			10	0,484			10	0,540
		20	0,589			15	0,344			20	0,428
	2×10^{-3}	30	0,553			20	0,293			30	0,366
		2	0,798		1×10^{-3}	2	0,801			5	0,730
		5	0,819			5	0,662			10	0,699
		10	0,753			10	0,540			20	0,556
		15	0,744			20	0,428			30	0,489
		20	0,714		2×10^{-3}	30	0,366				
		30	0,628			5	0,730				

Çizelge 4.5 Farklı glisin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Gly] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Gly] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Gly] (M)	t (dak.)	Abs
0,785x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,583	3,14x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,558	6,28x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,579
		5	0,565			5	0,467			5	0,451
		10	0,561			10	0,271			10	0,296
		20	0,464			15	0,223			15	0,182
		30	0,452			20	0,180			20	0,152
	5x10 ⁻⁴	2	0,631		5x10 ⁻⁴	30	0,177		30	0,128	
		5	0,587			2	0,593		5x10 ⁻⁴	2	0,602
		15	0,552			5	0,520			5	0,473
		20	0,545			10	0,409			10	0,350
		30	0,502			15	0,369			15	0,256
	1x10 ⁻³	2	0,627		1x10 ⁻³	20	0,300			20	0,208
		10	0,602			30	0,218		30	0,153	
		15	0,558			2	0,641		1x10 ⁻³	2	0,637
		20	0,578			5	0,565			5	0,548
		30	0,526			10	0,509			10	0,454
	2x10 ⁻³	2	0,648		2x10 ⁻³	15	0,419			20	0,279
		5	0,609			20	0,394			30	0,186
		20	0,602			30	0,303		2x10 ⁻³	2	0,666
		30	0,543			2	0,648			5	0,634
						5	0,641			10	0,495
		10	0,656	20	0,333						
		20	0,466	30	0,240						
		30	0,401								
1,57x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,693	4,71x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,583				
		5	0,672			5	0,470				
		10	0,617			10	0,367				
		15	0,546			15	0,262				
		20	0,466			20	0,219				
	5x10 ⁻⁴	30	0,379		5x10 ⁻⁴	30	0,156				
		2	0,641			2	0,592				
		5	0,643			5	0,657				
		10	0,576			10	0,365				
		15	0,479			15	0,324				
	1x10 ⁻³	20	0,466		1x10 ⁻³	20	0,259				
		30	0,402			30	0,176				
		2	0,687			2	0,635				
		5	0,654			5	0,607				
		10	0,579			10	0,502				
	2x10 ⁻³	15	0,557		2x10 ⁻³	15	0,438				
		20	0,535			20	0,382				
		30	0,442			30	0,289				
		2	0,676			2	0,672				
		5	0,662			5	0,658				
		10	0,562								
		15	0,648								
		30	0,507								
		34	0,496								

Çizelge 4.6 Farklı glutamik asitxHCl ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Glu] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Glu] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Glu] (M)	t (dak.)	Abs
$0,785 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,824	$3,14 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,769	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	1	0,727
		5	0,754			5	0,648			7	0,311
		10	0,730			10	0,511			12	0,175
		20	0,643			20	0,313			17	0,140
		30	0,530			30	0,235			25	0,125
	5×10^{-4}	2	0,903		5×10^{-4}	2	0,835		5×10^{-4}	1,5	0,746
		5	0,811			5	0,701			8	0,347
		10	0,736			10	0,536			14	0,249
		20	0,677			20	0,335			20	0,181
		30	0,609			30	0,273			25	0,160
	1×10^{-3}	2	0,941		1×10^{-3}	2	0,919		1×10^{-3}	2	0,748
		5	0,911			5	0,780			5	0,576
		10	0,831			10	0,601			10	0,376
		20	0,730			20	0,425			15	0,276
		30	0,692			30	0,313			20	0,215
	2×10^{-3}	2	0,964		2×10^{-3}	2	0,914		2×10^{-3}	30	0,157
		5	0,935			5	0,860			2	0,854
		10	0,880			10	0,707			5	0,664
		20	0,821			15	0,588			10	0,486
		30	0,730			20	0,478			15	0,334
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,833	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	30	0,397	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	20	0,295
		5	0,714			2	0,730			30	0,238
		10	0,589			5	0,575				
		20	0,458			10	0,432				
		30	0,345			15	0,302				
	5×10^{-4}	2	0,853		5×10^{-4}	20	0,231		5×10^{-4}	2	0,786
		5	0,780			30	0,149			5	0,676
		10	0,691			2	0,786			10	0,474
		15	0,610			5	0,676			15	0,326
		20	0,532			10	0,474			20	0,264
	1×10^{-3}	30	0,457		1×10^{-3}	15	0,326		1×10^{-3}	20	0,264
		2	0,875			20	0,264			30	0,189
		5	0,813			30	0,189			2	0,967
		10	0,706			2	0,967			5	0,732
		15	0,604			5	0,732			10	0,525
	2×10^{-3}	20	0,586		2×10^{-3}	18	0,356		2×10^{-3}	18	0,356
		30	0,493			25	0,301			25	0,301
		2	0,942			2	0,878			2	0,878
		5	0,854			5	0,754			5	0,754
		10	0,795			10	0,640			10	0,640
		20	0,660			15	0,484			15	0,484
		30	0,566			20	0,401			20	0,401
						30	0,306			30	0,306

Çizelge 4.7 Farklı glutamin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorban değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[Gln] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Gln] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[Gln] (M)	t (dak.)	Abs
$0,785 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,668	$3,14 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,743	$6,28 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,652
		5	0,741			5	0,615			5	0,483
		10	0,628			10	0,487			10	0,267
		15	0,527			15	0,340			15	0,153
		30	0,399			20	0,278			20	0,121
	5×10^{-4}	2	0,777		5×10^{-4}	30	0,195		5×10^{-4}	30	0,106
		5	0,716			2	0,704			2	0,724
		10	0,638			5	0,653			5	0,554
		20	0,583			10	0,500			10	0,357
		30	0,521			15	0,365			15	0,277
	1×10^{-3}	2	0,748		1×10^{-3}	20	0,326		1×10^{-3}	20	0,197
		5	0,690			30	0,233			30	0,141
		10	0,650			2	0,764			2	0,716
		15	0,613			5	0,665			5	0,645
		20	0,607			10	0,581			10	0,472
	2×10^{-3}	30	0,538		2×10^{-3}	15	0,513			15	0,293
		5	0,741			20	0,406			20	0,256
		10	0,734			30	0,304			30	0,165
		20	0,710			2	0,776		2×10^{-3}	2	0,763
		30	0,689			5	0,750			5	0,673
$1,57 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	2	0,760	$4,71 \times 10^{-7}$	1×10^{-4}	10	0,660			10	0,609
		5	0,726			15	0,630			15	0,465
		10	0,562			20	0,512			20	0,442
		15	0,479			30	0,506			30	0,276
		20	0,423		5×10^{-4}	2	0,745		5×10^{-4}	2	0,737
	5×10^{-4}	30	0,311			5	0,601			5	0,660
		2	0,800			10	0,334			10	0,519
		5	0,738			15	0,233			15	0,385
		15	0,515			20	0,181			20	0,272
	1×10^{-3}	20	0,483			30	0,135			30	0,188
		30	0,390		1×10^{-3}	2	0,737		1×10^{-3}	2	0,765
		2	0,836			5	0,660			5	0,628
		5	0,762			10	0,519			10	0,469
		10	0,671			15	0,385			15	0,407
	2×10^{-3}	15	0,599			20	0,272			20	0,314
		20	0,526			30	0,188			30	0,230
		30	0,514		2×10^{-3}	2	0,765			2	0,803
		2	0,830			5	0,628			5	0,708
		5	0,766			10	0,469			10	0,648
		10	0,732			15	0,407			15	0,547
		15	0,666			20	0,314			20	0,468
		20	0,592			30	0,230			30	0,349
		30	0,586			2	0,803			2	0,803

Çizelge 4.8 Farklı histidin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi

[Cu ²⁺] (M)	[His] (M)	t (dak.)	Abs	[Cu ²⁺] (M)	[His] (M)	t (dak.)	Abs
0,785x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,773	4,71x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,770
		5	0,676			5	0,553
		10	0,648			10	0,469
		20	0,539			15	0,376
		30	0,537			20	0,267
	5x10 ⁻⁴	2	0,702		5x10 ⁻⁴	30	0,190
		5	0,672			2	0,815
		15	0,653			5	0,668
		20	0,627			10	0,599
		27	0,602			15	0,497
		33	0,578			20	0,510
						30	0,380
1,57x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,745	6,28x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴	2	0,691
		5	0,689			5	0,563
		10	0,644			10	0,432
		20	0,583			15	0,329
	5x10 ⁻⁴	30	0,418			20	0,239
		2	0,737		5x10 ⁻⁴	30	0,152
		5	0,752			2	0,700
		10	0,632			5	0,908
		20	0,643			10	0,597
		30	0,540			15	0,522
3,14x10 ⁻⁷	1x10 ⁻⁴					20	0,437
		2	0,688			30	0,402
		5	0,690				
		10	0,499				
		20	0,350				
	5x10 ⁻⁴	30	0,323				
		2	0,697				
		5	0,725				
		10	0,580				
		15	0,564				
		30	0,463				

Çizelge 4.9 Farklı alanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Ala] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$22,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,999$	$31,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,980$	$42,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,974$	$54,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,971$	$65,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,966$
5×10^{-4}	$18,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,921$	$28,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,976$	$38,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,978$	$51,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,988$	$57,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,980$
1×10^{-3}	$16,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,800$	$23,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,946$	$34,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,995$	$46,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,994$	$53,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,991$
2×10^{-3}	$13,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,958$	$19,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,981$	$23,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,974$	$35,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,997$	$47,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,987$

Çizelge 4.10 Farklı asparajin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Asn] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$12,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,808$	$22,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,942$	$36,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,858$	$45,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,974$	$57,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,880$
5×10^{-4}	$8,18 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,842$	$17,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,978$	$27,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,968$	$32,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,995$	$49,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,975$
1×10^{-3}	$4,47 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,994$	$15,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,843$	$18,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,983$	$24,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,951$	$33,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,936$
2×10^{-3}	$2,15 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,942$	$7,12 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,894$	$11,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,985$	$13,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,987$	$22,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,959$

Çizelge 4.11 Farklı aspartik asit ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Asp] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$16,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,917$	$26,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,991$	$36,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,975$	$50,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,964$	$62,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,869$
5×10^{-4}	$12,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,866$	$17,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,982$	$24,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,971$	$37,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,996$	$51,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,946$
1×10^{-3}	$11,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,750$	$14,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,965$	$23,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,841$	$28,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,977$	$36,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,992$
2×10^{-3}	$6,95 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,998$	$10,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,962$	$11,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,979$	$19,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,989$	$28,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,871$

Çizelge 4.12 Farklı fenilalanin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Phe] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$12,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,764$	$25,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,926$	$45,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,955$	$48,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,913$	$52,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,855$
5×10^{-4}	$11,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,912$	$17,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,938$	$26,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,937$	$33,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,953$	$39,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,879$
1×10^{-3}	$9,85 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,981$	$13,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,926$	$21,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,977$	$26,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,943$	$29,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,894$
2×10^{-3}	$2,55 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,942$	$8,86 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,939$	$14,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,982$	$16,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,981$	$22,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,979$

Çizelge 4.13 Farklı glisin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Gly] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$10,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,917$	$22,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,988$	$42,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,825$	$47,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,977$	$56,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,903$
5×10^{-4}	$7,30 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,945$	$18,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,955$	$35,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,992$	$46,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,943$	$49,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,968$
1×10^{-3}	$6,03 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,878$	$15,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,976$	$26,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,988$	$28,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,997$	$44,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,999$
2×10^{-3}	$5,10 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,836$	$10,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,937$	$18,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,919$	$27,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,994$	$37,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,995$

Çizelge 4.14 Farklı glutamik asitxHCl ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Glu] (M)	k (dak ⁻¹)				
	0,785x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	1,57x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	3,14x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	4,71x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	6,28x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]
1x10 ⁻⁴	14,7x10 ⁻³ r ² = 0,979	30,3x10 ⁻³ r ² = 0,988	42,9x10 ⁻³ r ² = 0,987	57,0x10 ⁻³ r ² = 0,989	72,5x10 ⁻³ r ² = 0,847
5x10 ⁻⁴	12,8x10 ⁻³ r ² = 0,938	22,6x10 ⁻³ r ² = 0,987	40,7x10 ⁻³ r ² = 0,969	52,9x10 ⁻³ r ² = 0,970	63,9x10 ⁻³ r ² = 0,935
1x10 ⁻³	11,4x10 ⁻³ r ² = 0,963	20,6x10 ⁻³ r ² = 0,966	37,9x10 ⁻³ r ² = 0,987	50,2x10 ⁻³ r ² = 0,958	56,1x10 ⁻³ r ² = 0,955
2x10 ⁻³	9,62x10 ⁻³ r ² = 0,992	17,7x10 ⁻³ r ² = 0,992	31,6x10 ⁻³ r ² = 0,980	38,4x10 ⁻³ r ² = 0,985	46,1x10 ⁻³ r ² = 0,923

Çizelge 4.15 Farklı glutamin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[Gln] (M)	k (dak ⁻¹)				
	$0,785 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$1,57 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$3,14 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$4,71 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]	$6,28 \times 10^{-7}$ M [Cu ²⁺]
1×10^{-4}	$21,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,929$	$32,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,989$	$48,6 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,983$	$63,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,931$	$68,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,876$
5×10^{-4}	$13,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,957$	$26,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,977$	$41,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,979$	$51,1 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,990$	$58,7 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,965$
1×10^{-3}	$10,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,957$	$18,2 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,907$	$32,5 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,994$	$42,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,982$	$54,8 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,974$
2×10^{-3}	$2,99 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,995$	$13,0 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,909$	$16,9 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,910$	$29,4 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,996$	$35,3 \times 10^{-3}$ $r^2 = 0,980$

Çizelge 4.16 Farklı histidin ve Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asit oksidasyon reaksiyonunun hız sabitleri (k)

[His] (M)	k (dak ⁻¹)				
	0,785x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	1,57x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	3,14x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	4,71x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]	6,28x10 ⁻⁷ M [Cu ²⁺]
1x10 ⁻⁴	12,6x10 ⁻³ r ² = 0,868	18,9x10 ⁻³ r ² = 0,942	30,0x10 ⁻³ r ² = 0,922	48,4x10 ⁻³ r ² = 0,977	54,3x10 ⁻³ r ² = 0,996
5x10 ⁻⁴	5,83x10 ⁻³ r ² = 0,979	13,2x10 ⁻³ r ² = 0,891	15,7x10 ⁻³ r ² = 0,913	24,8x10 ⁻³ r ² = 0,939	26,4x10 ⁻³ r ² = 0,808

Çizelge 4.17 Farklı Cu(II) konsantrasyonları varlığında, $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi ve hız sabitleri

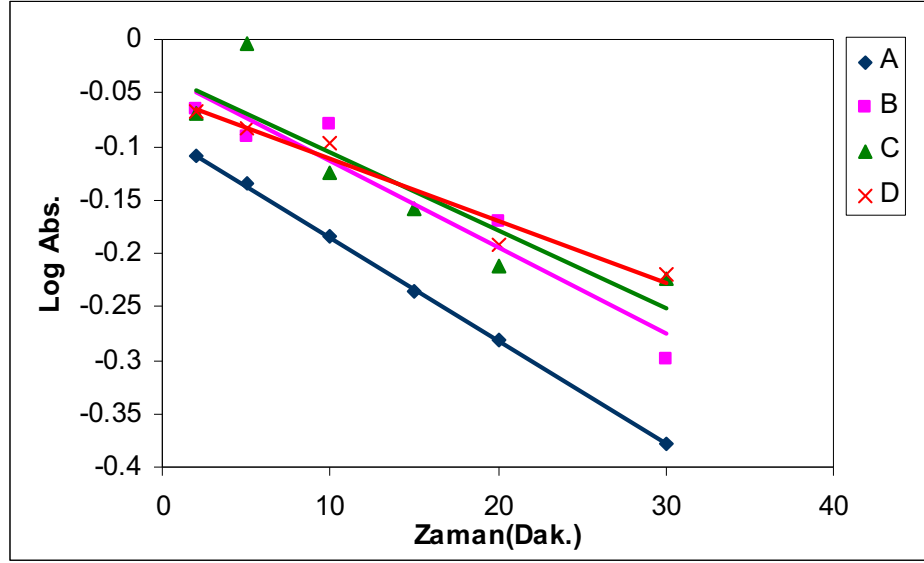
[Cu ²⁺] (M)	t (dak.)	Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
0,785x10 ⁻⁷	10	0,692	18,8x10 ⁻³	0,936
	15	0,572		
	20	0,540		
	30	0,463		
1,57x10 ⁻⁷	2	0,772	28,4x10 ⁻³	0,986
	5	0,729		
	10	0,633		
	15	0,503		
	20	0,457		
	30	0,359		
3,14x10 ⁻⁷	2	0,707	46,8x10 ⁻³	0,973
	5	0,721		
	10	0,446		
	15	0,390		
	20	0,309		
	30	0,202		
4,71x10 ⁻⁷	2	0,709	63,6x10 ⁻³	0,971
	5	0,556		
	10	0,330		
	15	0,295		
	20	0,181		
	30	0,120		
6,28x10 ⁻⁷	2	0,621	85,2x10 ⁻³	0,979
	5	0,412		
	10	0,274		
	15	0,169		
	20	0,134		

Çizelge 4.18 pH 4,5' de $5,67 \times 10^{-4}$ M askorbik asidin oksidasyonundan geriye kalan miktarının, Cu(II)-Nc reaktifi ile oluşturduğu Cu(I)-Nc kompleksine ait absorbands değerlerinin zamanla değişimi ve hız sabiti

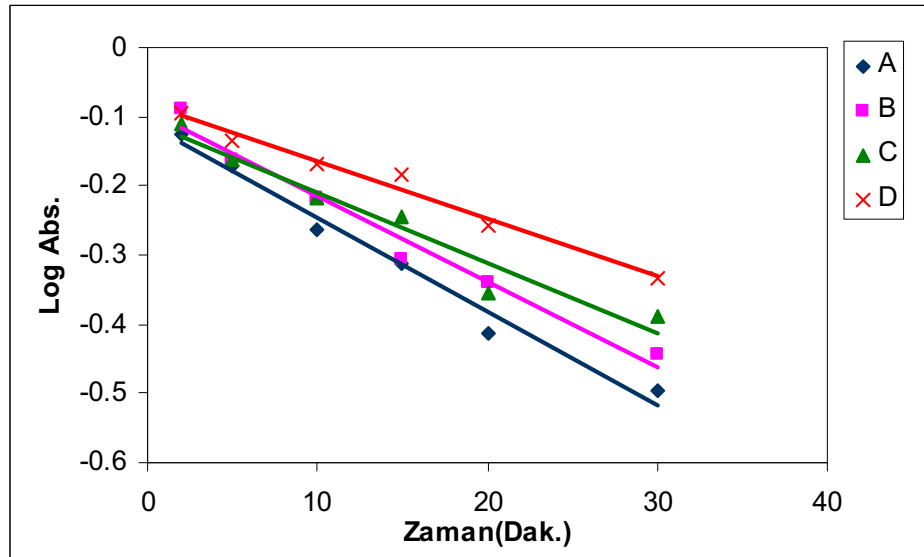
t (dak.)	Abs	k (dak ⁻¹)	r ²
2	0,631	1,38x10 ⁻³	0,945
10	0,623		
20	0,624		
30	0,604		
50	0,597		
60	0,582		

Çizelge 4.19 Askorbik asidin pH 4,5 değerinde farklı Cu(II) - amino asit katalizli oksidasyonunun spesifik hız sabitleri

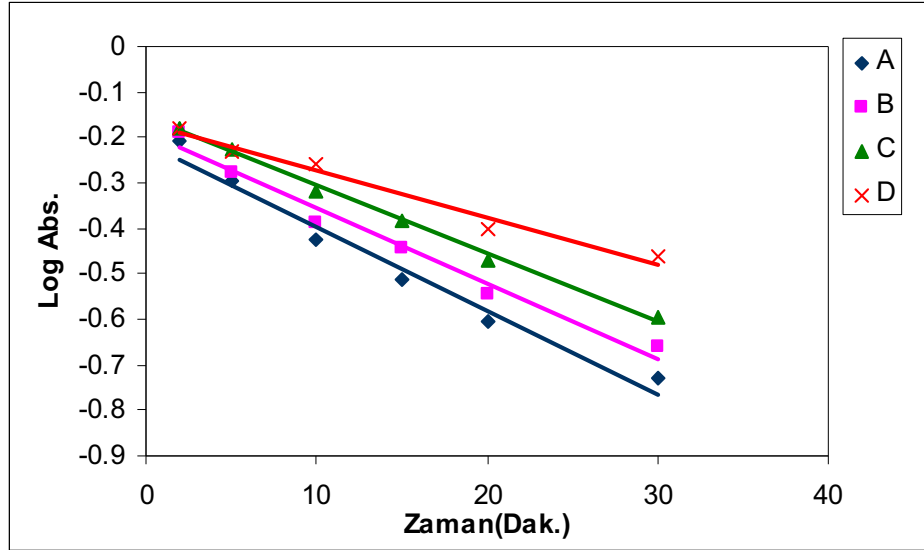
	AMİNO ASİT KONSANTRASYONLARI (M)							
	0,1x10 ⁻³		0,5x10 ⁻³		1,0x10 ⁻³		2,0x10 ⁻³	
AMİNO ASİTLER	K±S _k (M ⁻¹ dak ⁻¹)	r ²	K±S _k (M ⁻¹ dak ⁻¹)	r ²	K±S _k (M ⁻¹ dak ⁻¹)	r ²	K±S _k (M ⁻¹ dak ⁻¹)	r ²
Alanin	(7,72 ± 0,21) x 10 ⁴	0,995	(7,09 ± 0,45) x 10 ⁴	0,977	(6,76 ± 0,28) x 10 ⁴	0,990	(5,94 ± 0,36) x 10 ⁴	0,978
Aspartik Asit	(8,13 ± 0,22) x 10 ⁴	0,997	(7,02 ± 0,41) x 10 ⁴	0,986	(4,49 ± 0,14) x 10 ⁴	0,996	(3,64 ± 0,40) x 10 ⁴	0,953
Asparajin	(7,92 ± 0,39) x 10 ⁴	0,990	(6,77 ± 0,53) x 10 ⁴	0,976	(4,67 ± 0,49) x 10 ⁴	0,957	(3,24 ± 0,33) x 10 ⁴	0,961
Fenilalanin	(7,05 ± 1,20) x 10 ⁴	0,896	(5,00 ± 0,24) x 10 ⁴	0,991	(3,67 ± 0,25) x 10 ⁴	0,981	(3,35 ± 0,32) x 10 ⁴	0,965
Glisin	(8,12 ± 0,98) x 10 ⁴	0,944	(7,79 ± 0,90) x 10 ⁴	0,948	(6,30 ± 0,57) x 10 ⁴	0,969	(5,82 ± 0,12) x 10 ⁴	0,998
Glutamik Asit	(9,94 ± 0,52) x 10 ⁴	0,989	(9,27 ± 0,46) x 10 ⁴	0,990	(8,32 ± 0,66) x 10 ⁴	0,975	(6,54 ± 0,48) x 10 ⁴	0,979
Glutamin	(8,68 ± 0,72) x 10 ⁴	0,973	(8,00 ± 0,68) x 10 ⁴	0,972	(7,90 ± 0,23) x 10 ⁴	0,997	(5,64 ± 0,45) x 10 ⁴	0,975
Histidin	(7,98 ± 0,48) x 10 ⁴	0,986	(3,67 ± 0,41) x 10 ⁴	0,952	—	—	—	—
Sadece Cu(II) için (ortamda amino asit yokken) K±S _k (M ⁻¹ dak ⁻¹) = (11,89± 0,20) x 10 ⁴ (r ² = 0,999)								
S _k = K değerlerinin standart sapması, r ² = regresyon katsayısı								
K = Konsantrasyondan bağımsız spesifik hız sabiti, $K = \frac{k_d}{[Cu(II)]}$								



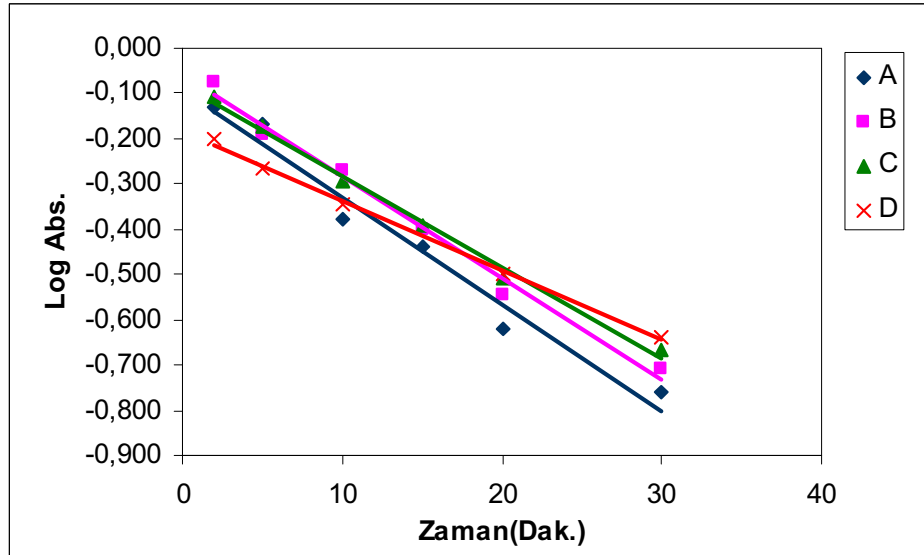
Şekil 4.2 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



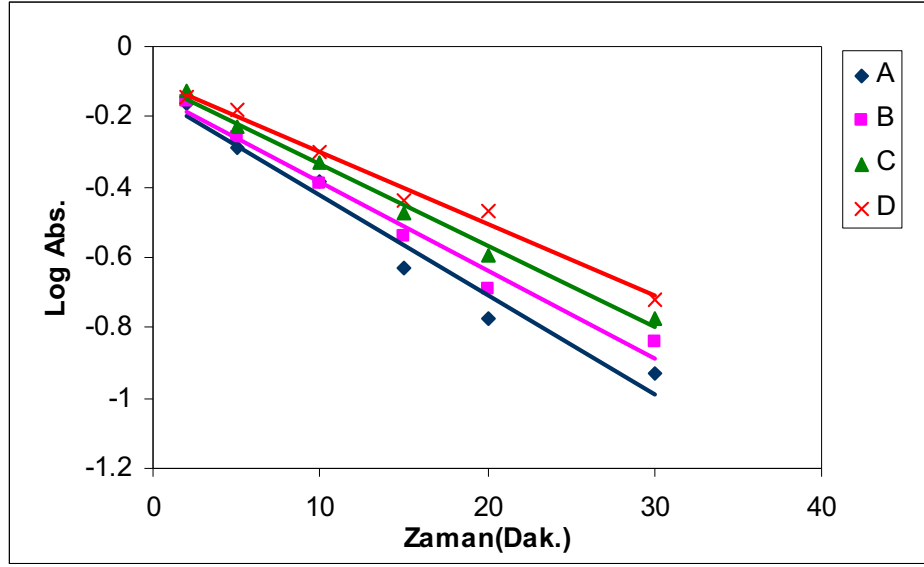
Şekil 4.3 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



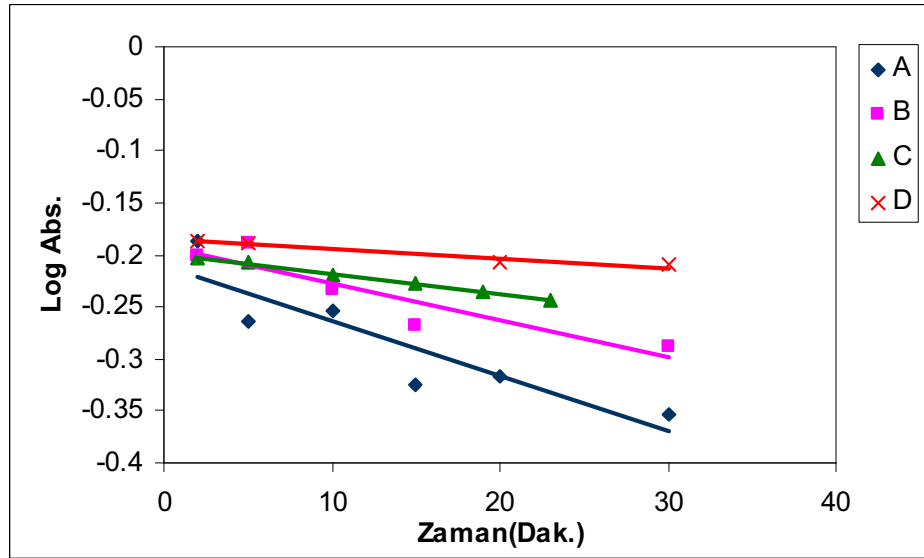
Şekil 4.4 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



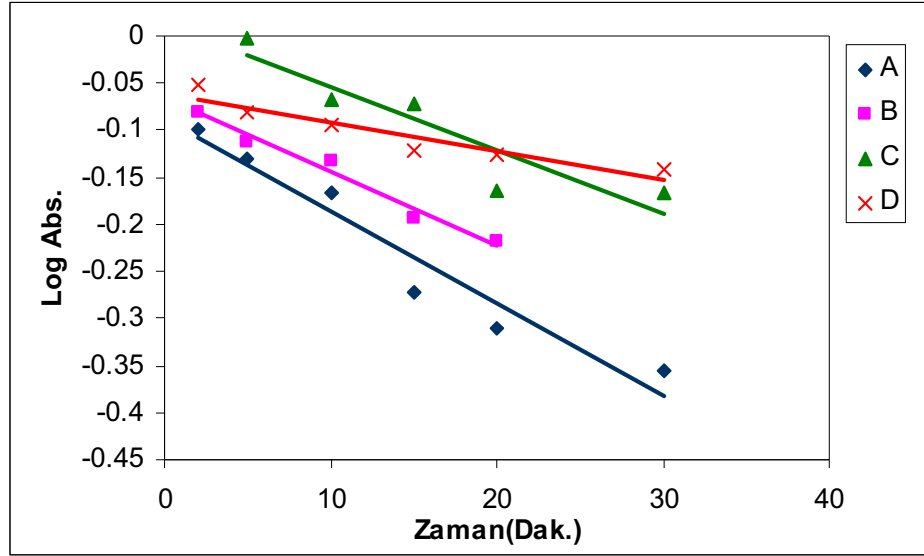
Şekil 4.5 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



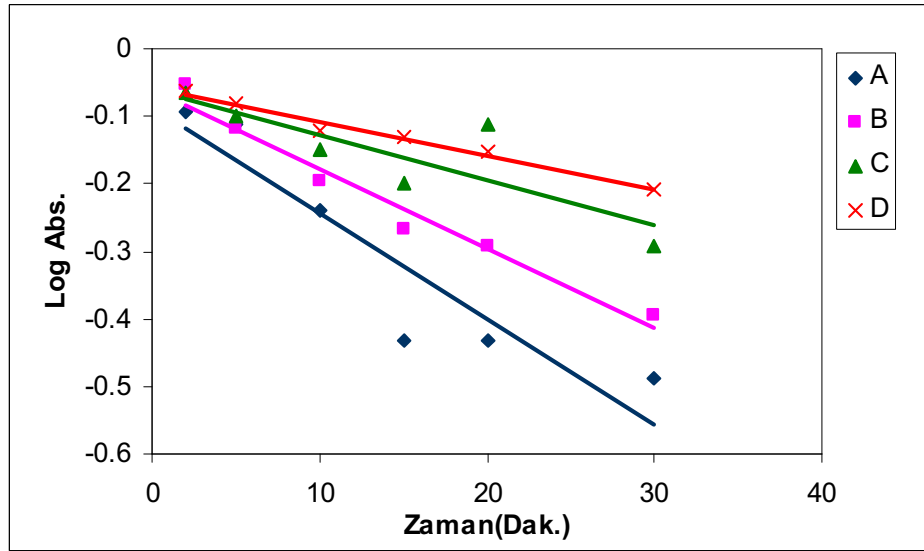
Şekil 4.6 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı alanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



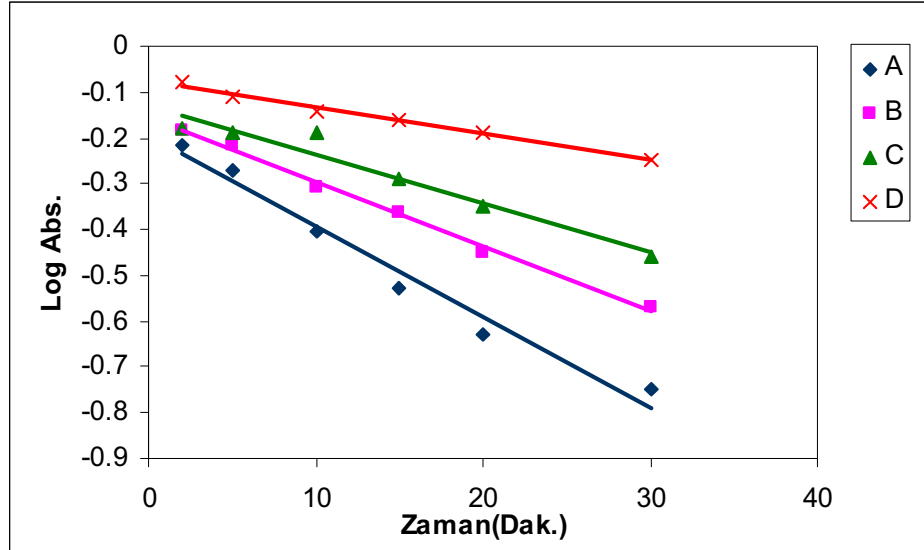
Şekil 4.7 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



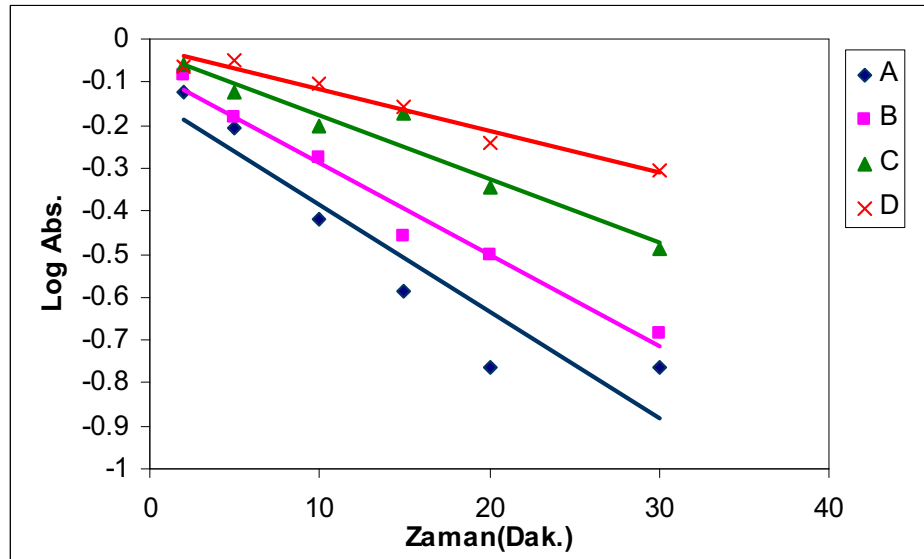
Şekil 4.8 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı asparajın miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



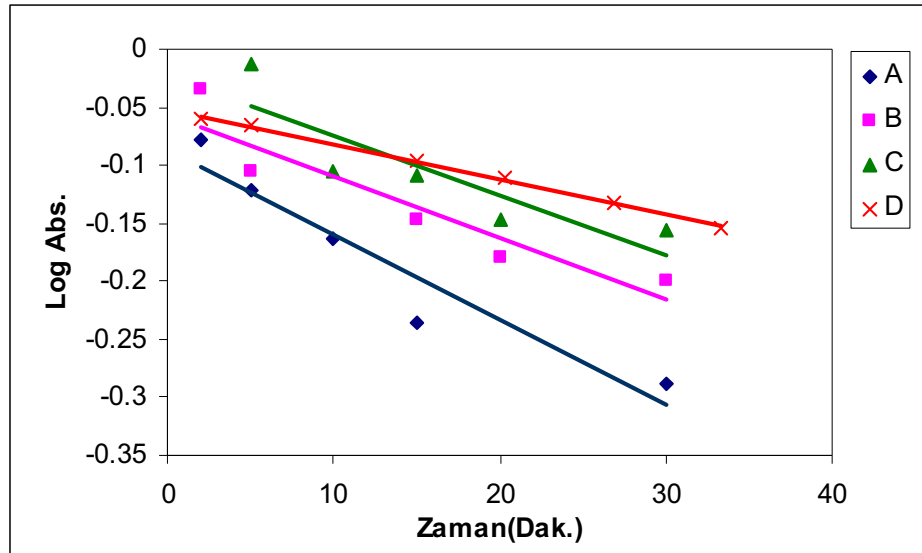
Şekil 4.9 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı asparajın miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



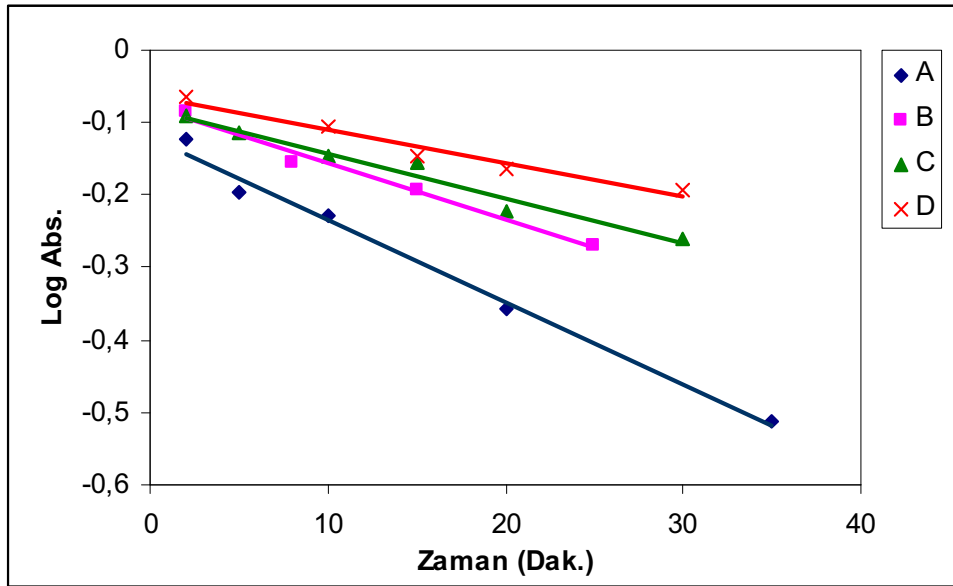
Şekil 4.10 4,71x10⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) x 10⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



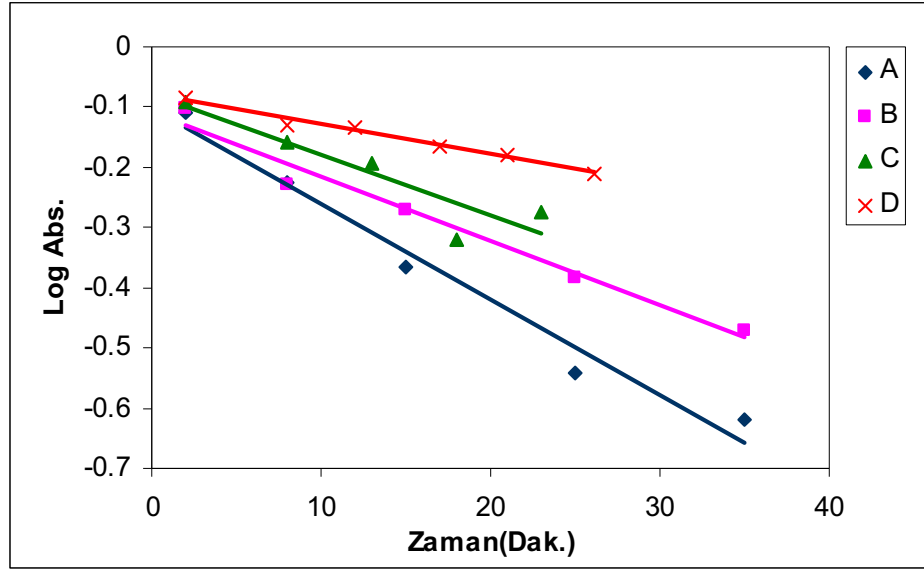
Şekil 4.11 6,28x10⁻⁷ M Cu(II) ve farklı asparajin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) x 10⁻⁴ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



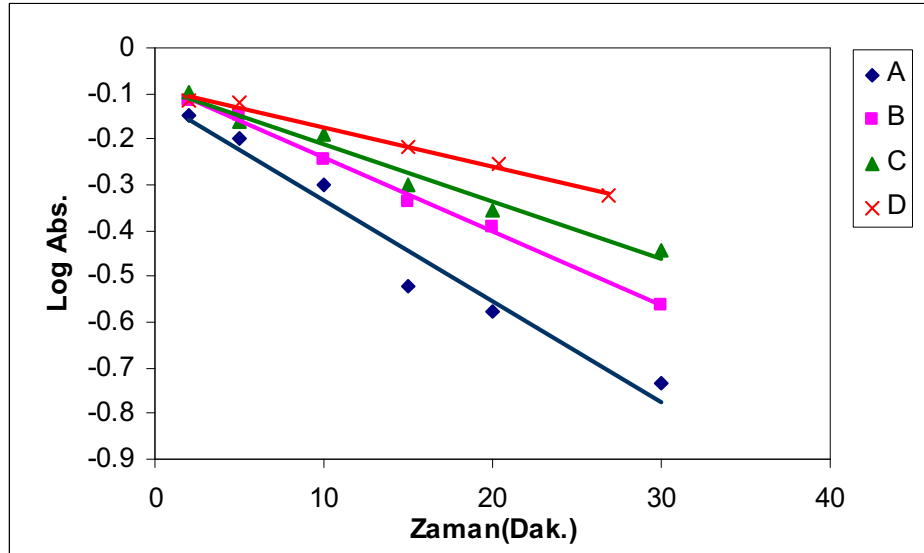
Şekil 4.12 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



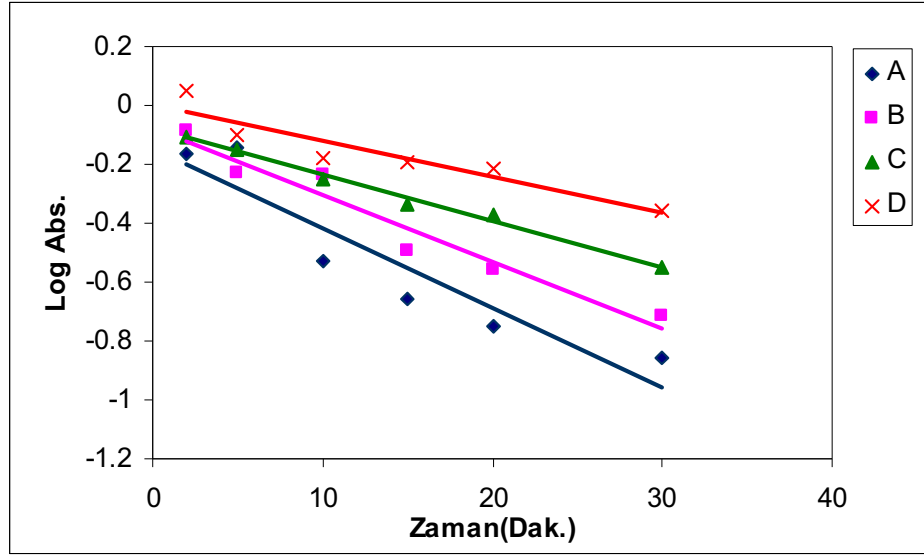
Şekil 4.13 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



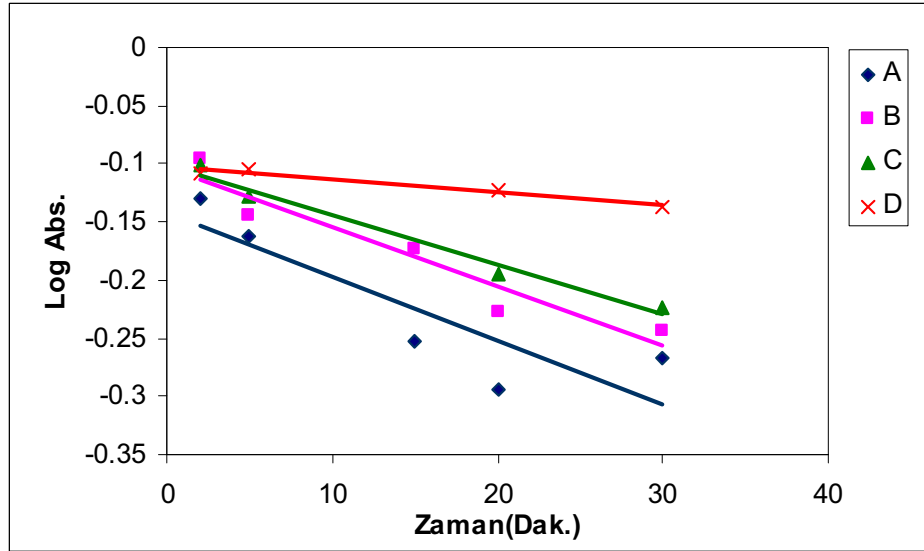
Şekil 4.14 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



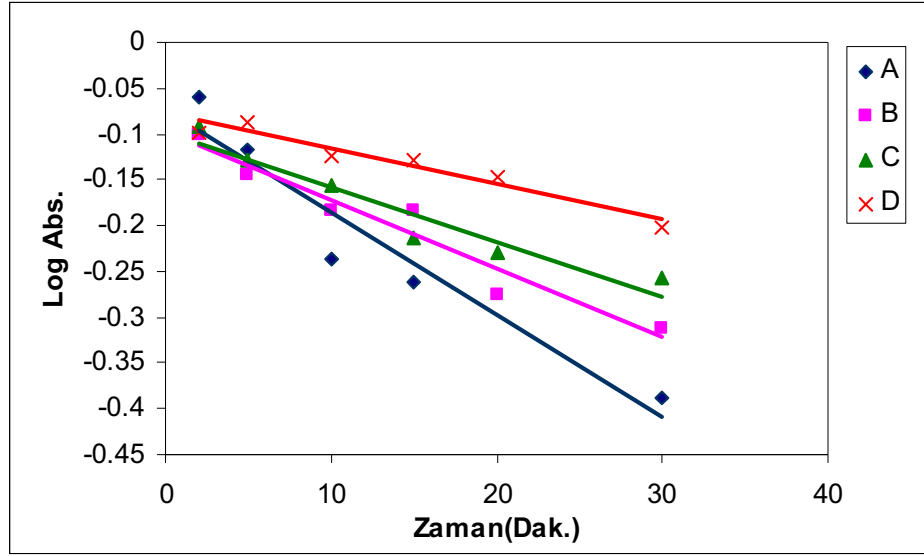
Şekil 4.15 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



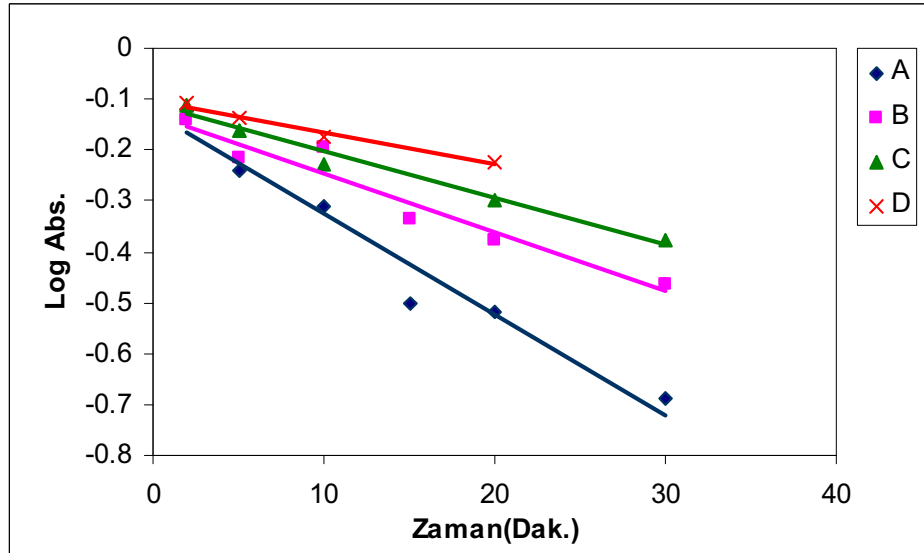
Şekil 4.16 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı aspartik asit miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



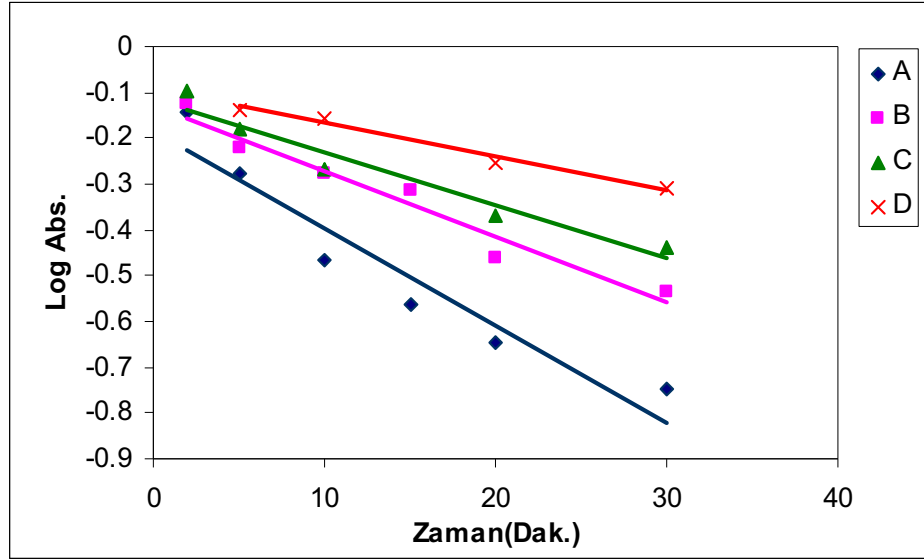
Şekil 4.17 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



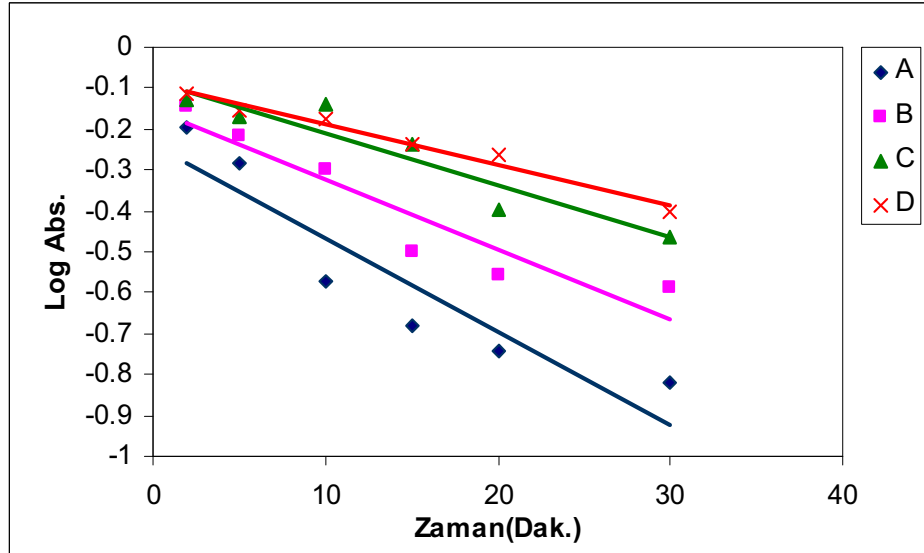
Şekil 4.18 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



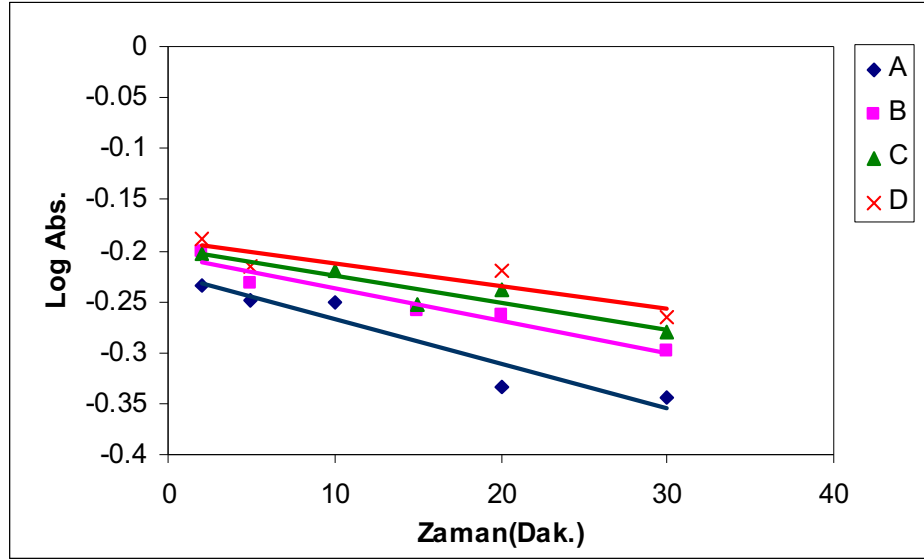
Şekil 4.19 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



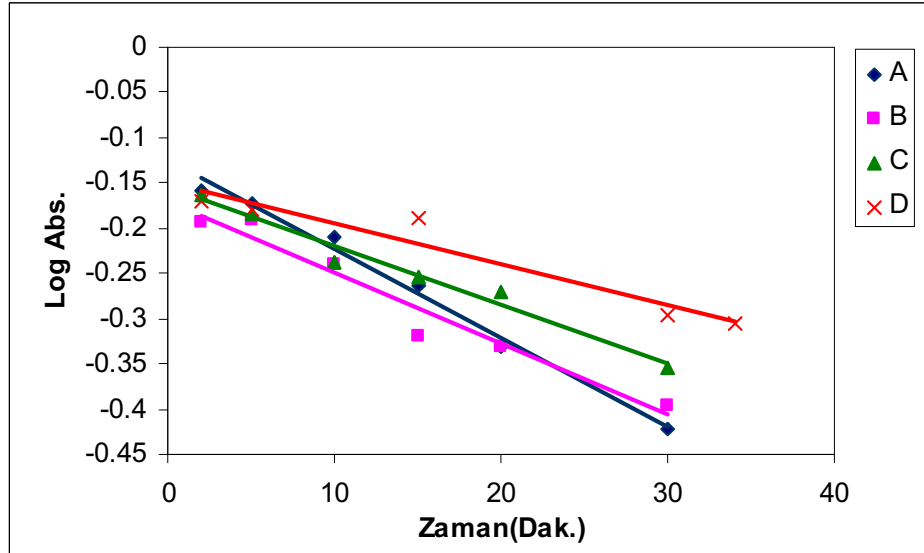
Şekil 4.20 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



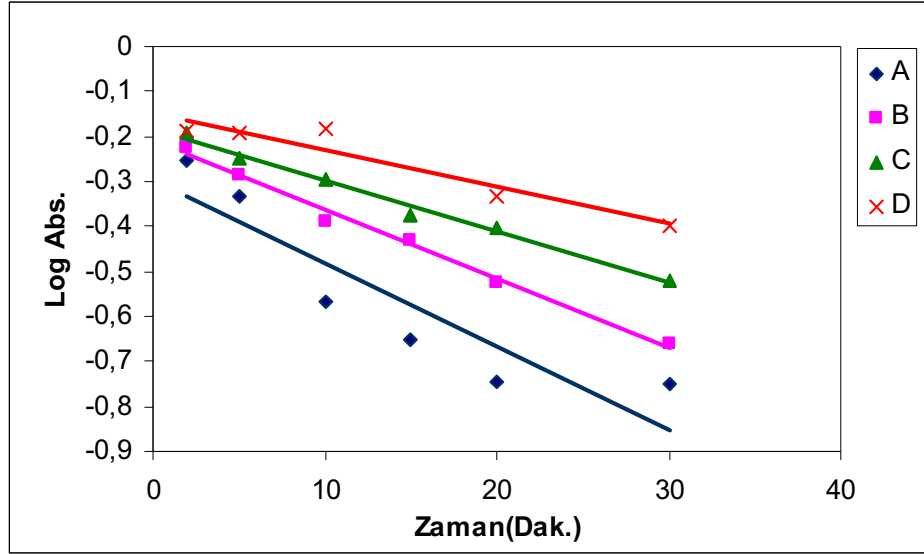
Şekil 4.21 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı fenilalanin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



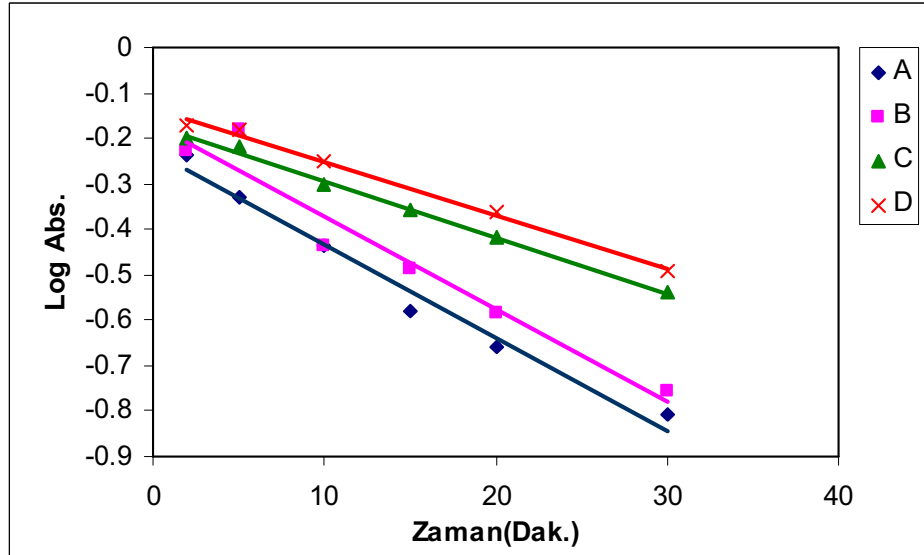
Şekil 4.22 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



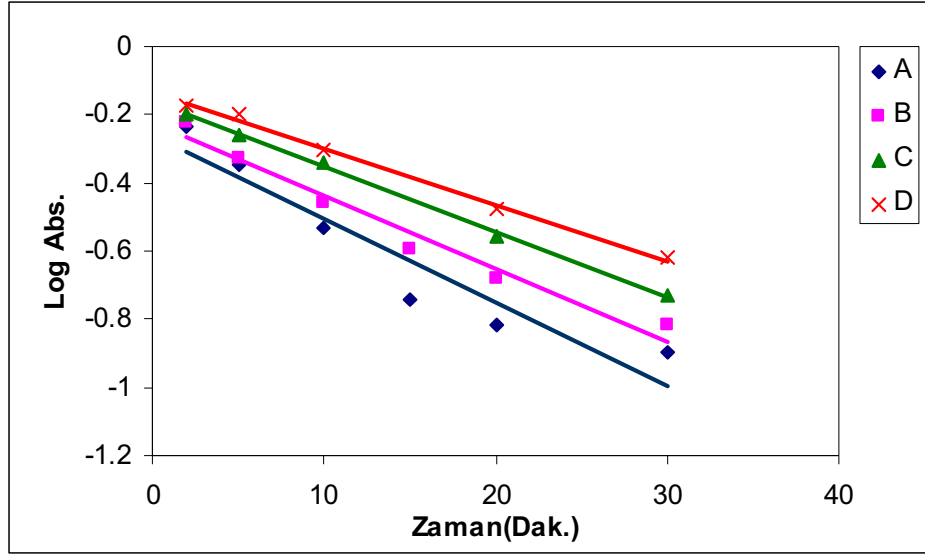
Şekil 4.23 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



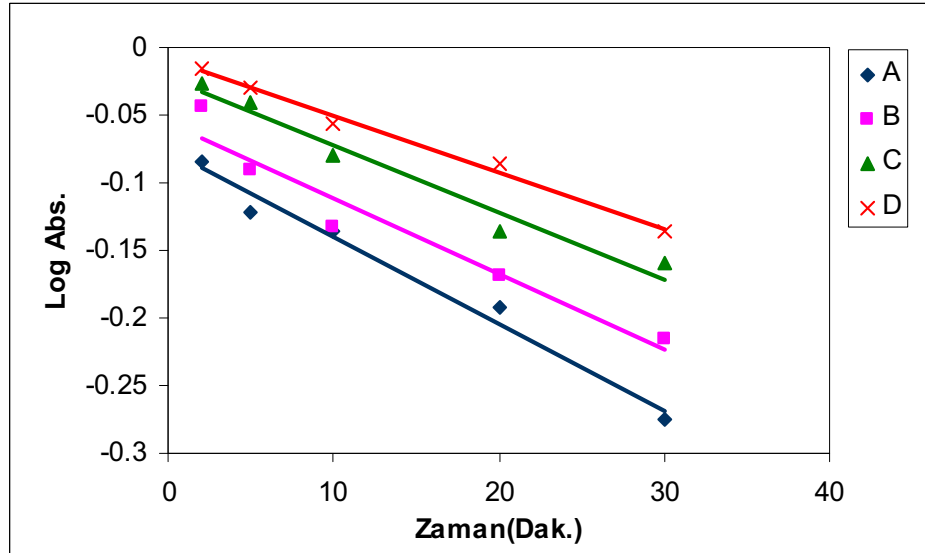
Şekil 4.24 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



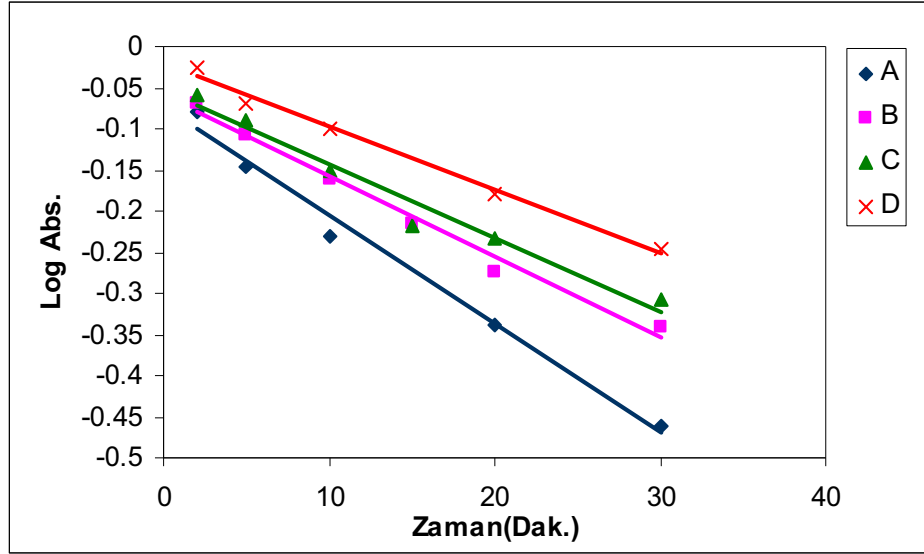
Şekil 4.25 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



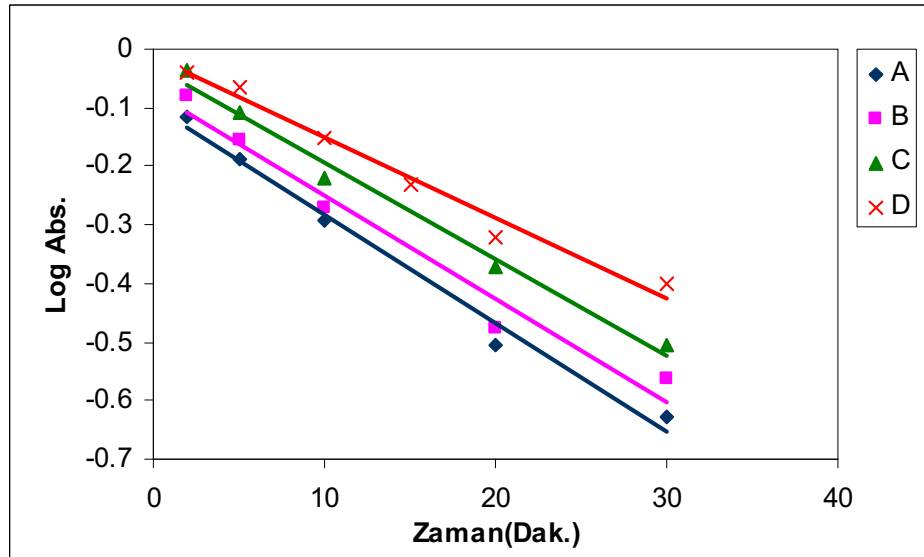
Şekil 4.26 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glisin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



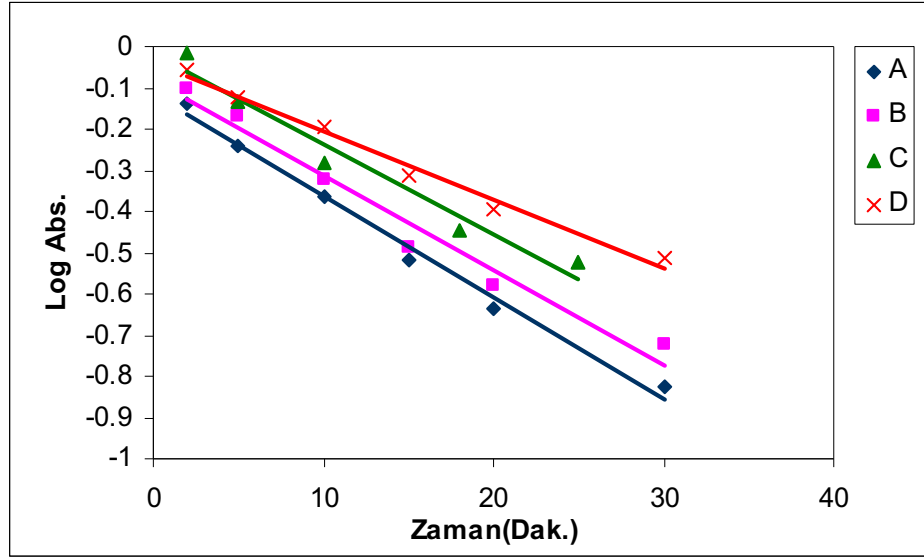
Şekil 4.27 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



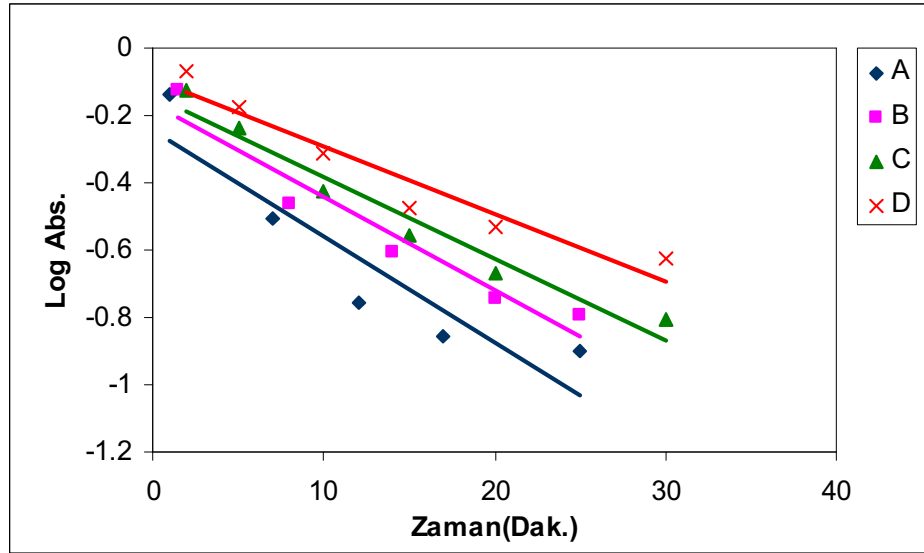
Şekil 4.28 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



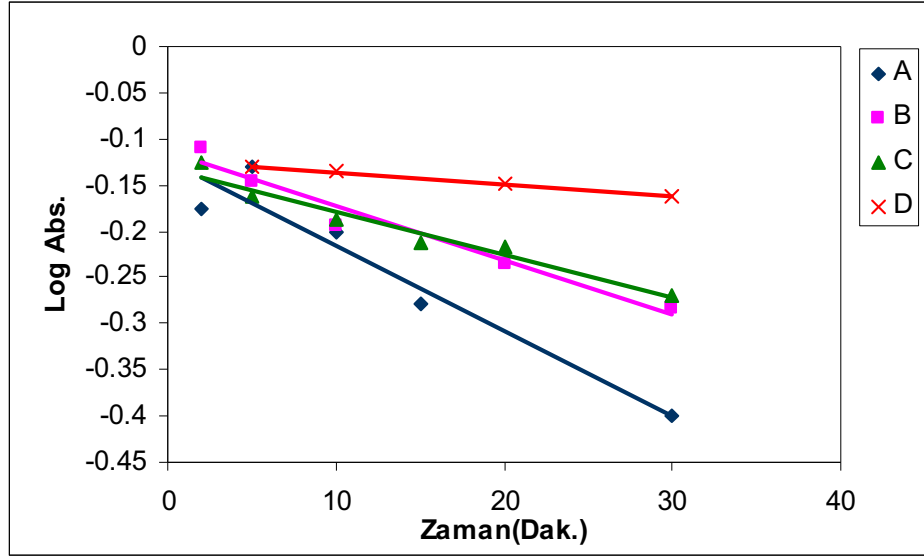
Şekil 4.29 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



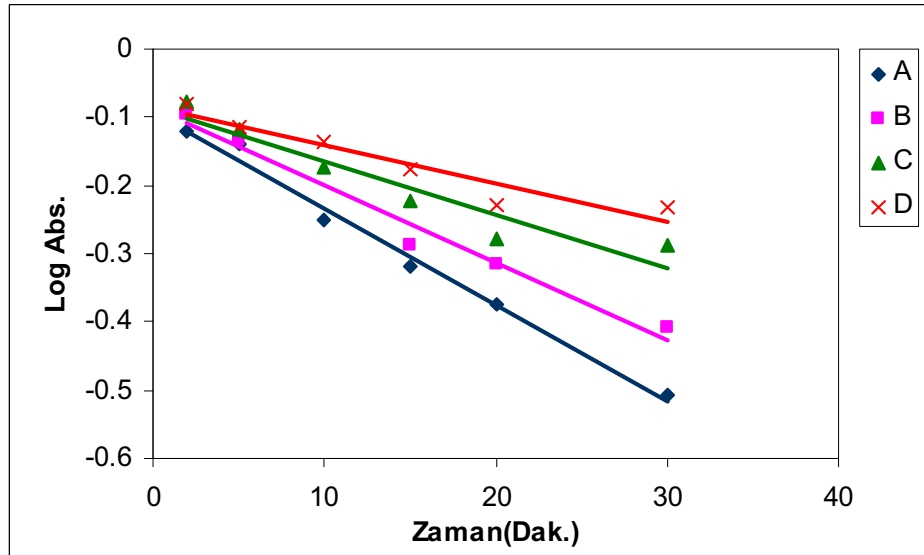
Şekil 4.30 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



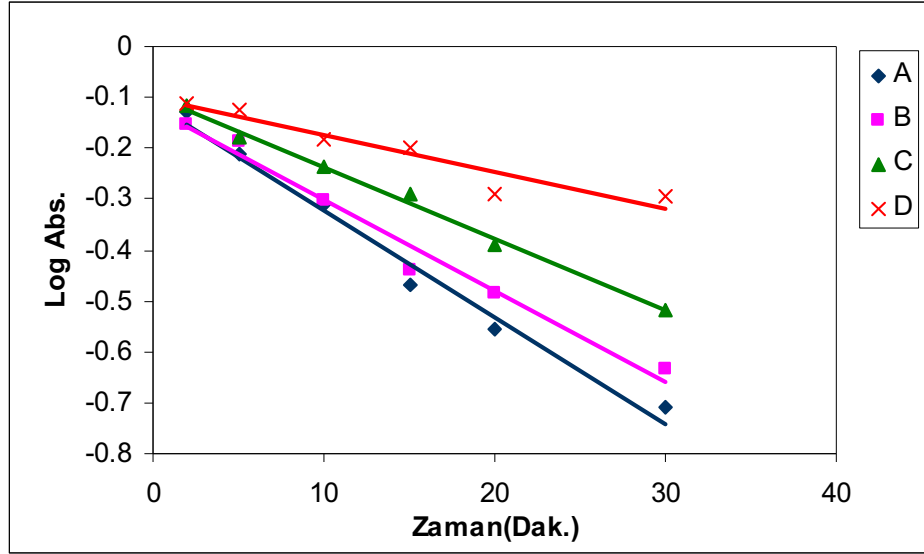
Şekil 4.31 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamik asitxHCl miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



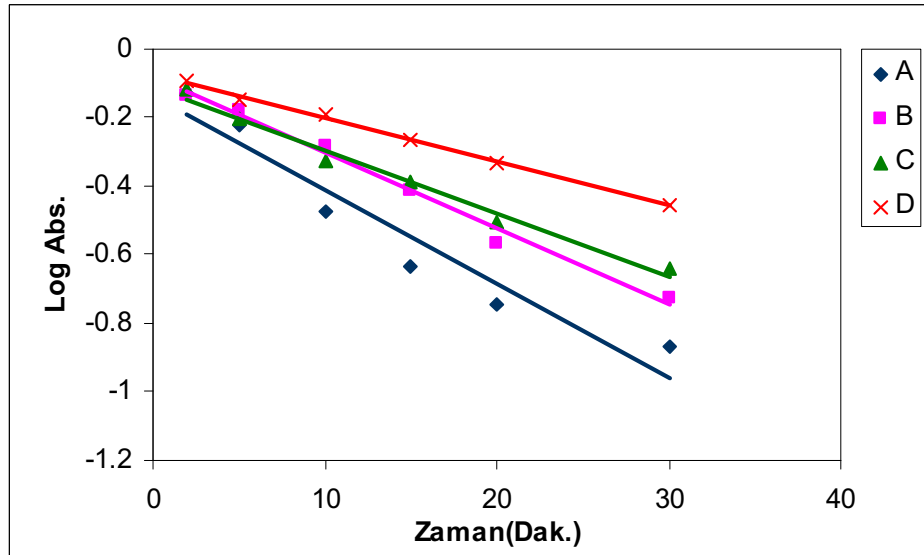
Şekil 4.32 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



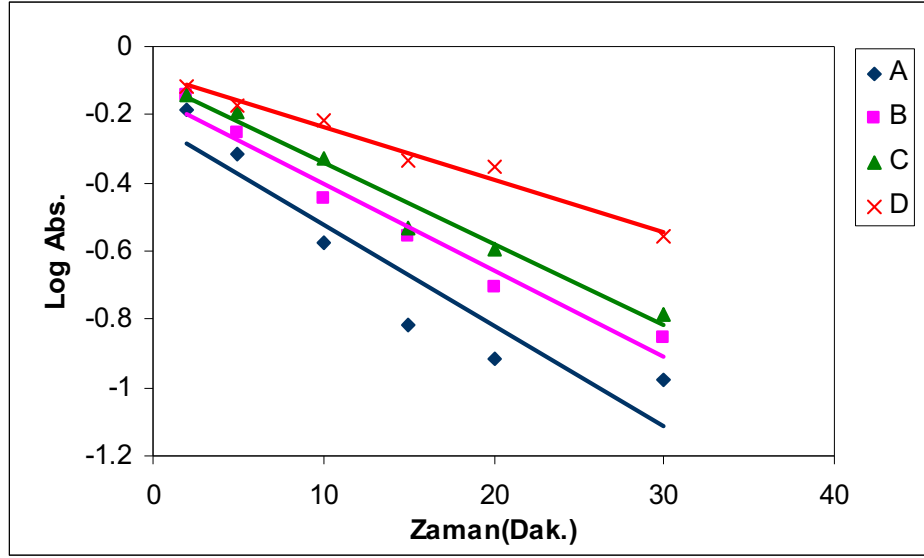
Şekil 4.33 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



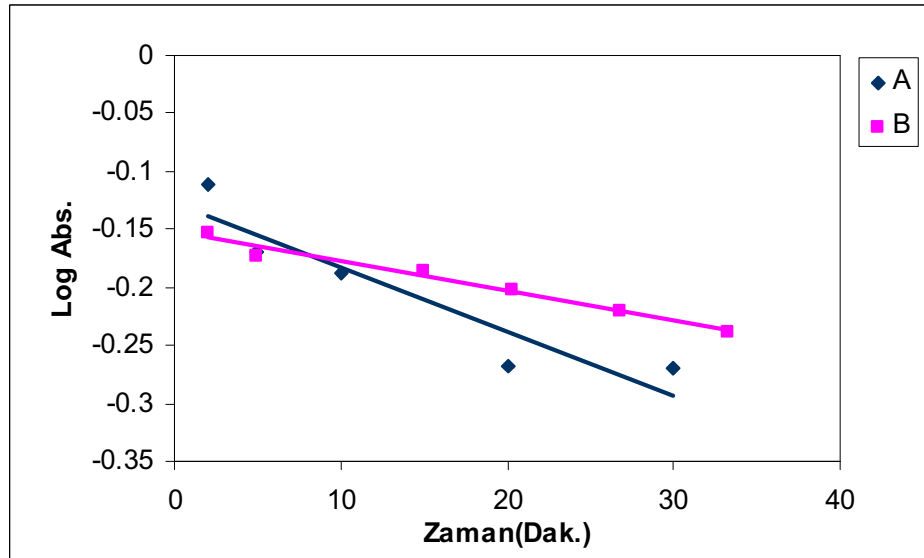
Şekil 4.34 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



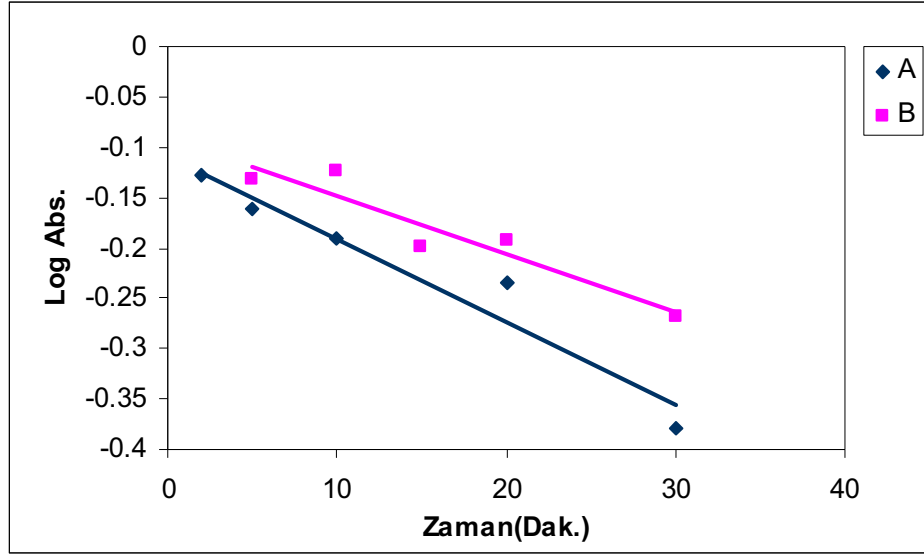
Şekil 4.35 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



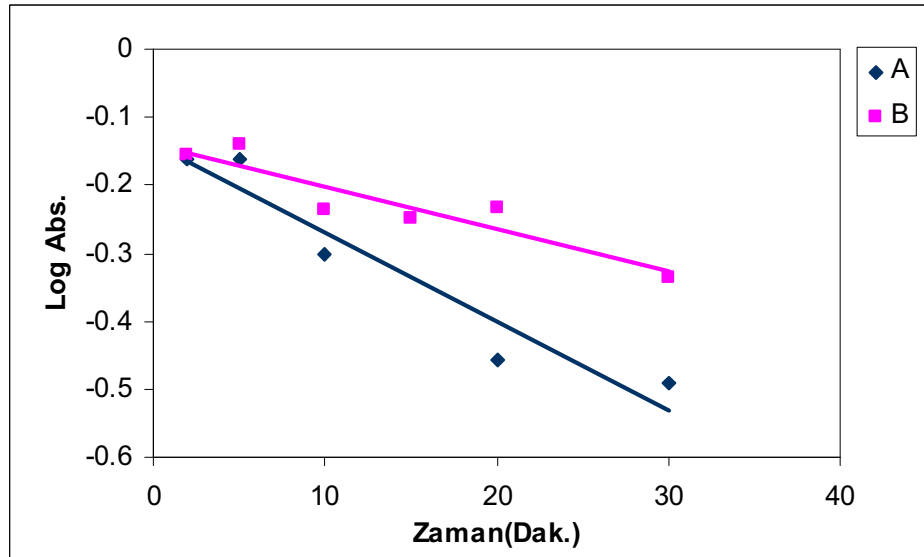
Şekil 4.36 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı glutamin miktarları [(A: 1, B: 5, C: 10, D: 20) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



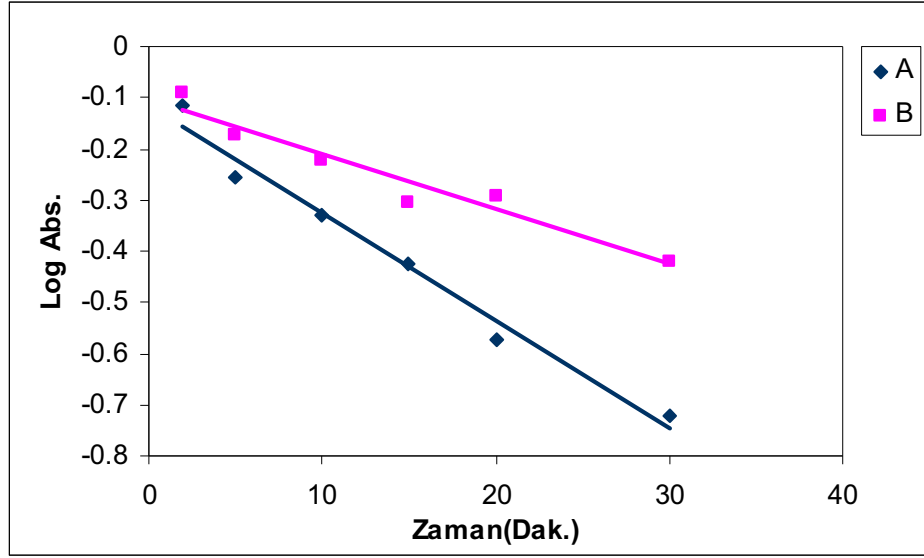
Şekil 4.37 $0,785 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A: 1, B: 5) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



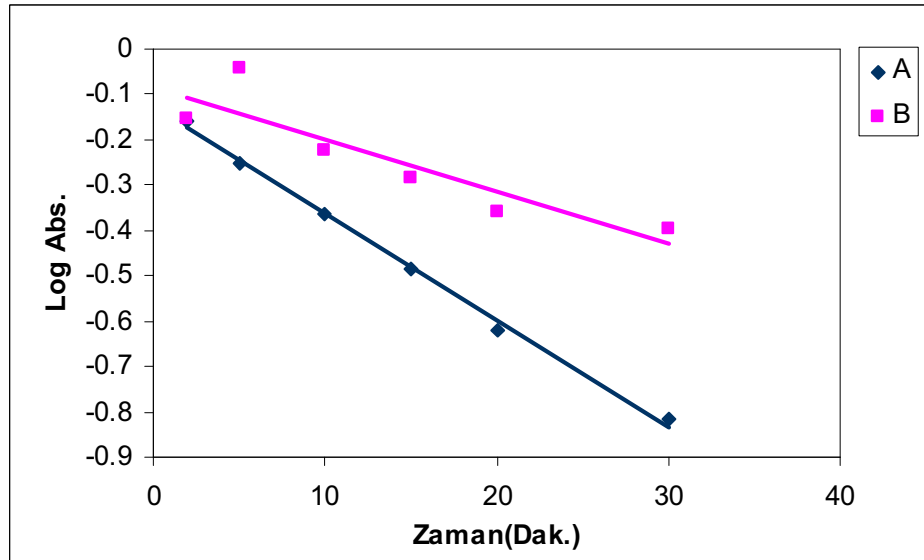
Şekil 4.38 $1,57 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A: 1, B: 5) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



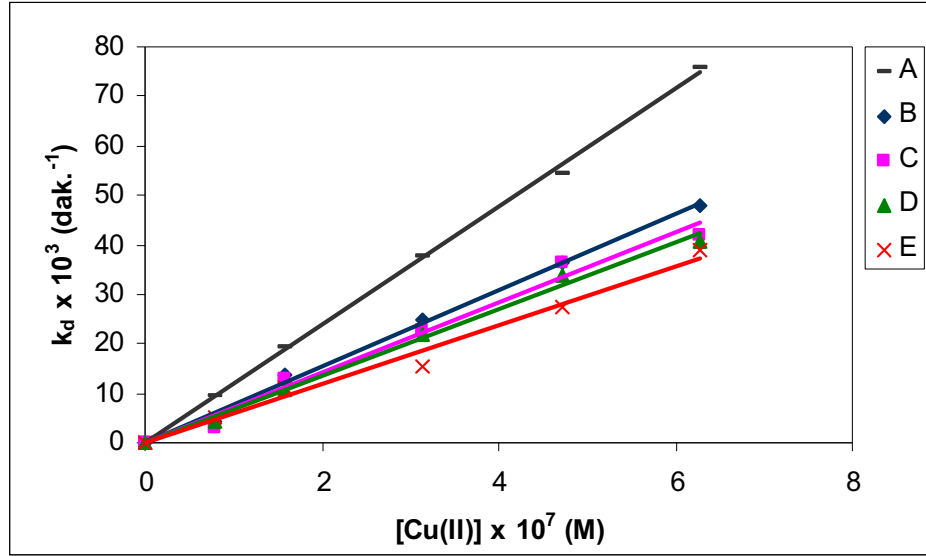
Şekil 4.39 $3,14 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A: 1, B: 5) $\times 10^{-4}$ M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



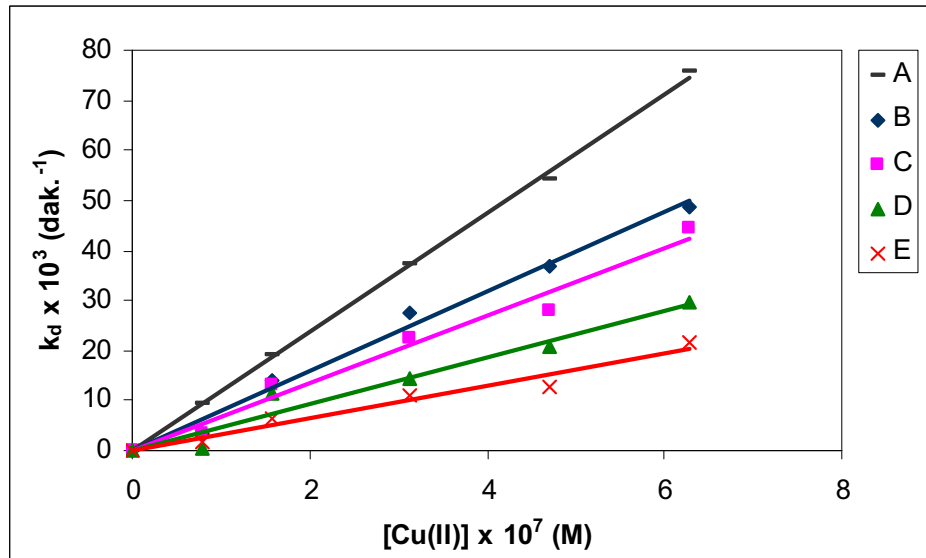
Şekil 4.40 $4,71 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A: 1, B: 5×10^{-4} M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



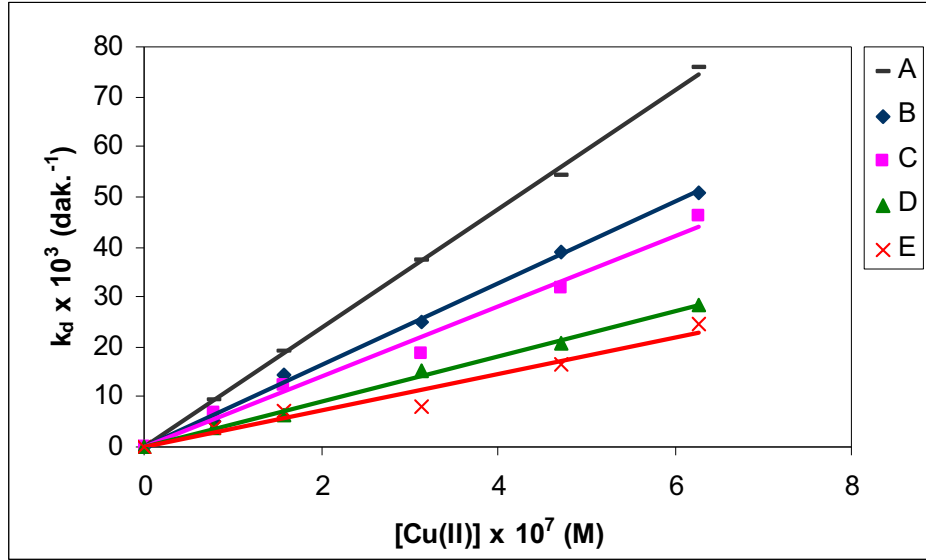
Şekil 4.41 $6,28 \times 10^{-7}$ M Cu(II) ve farklı histidin miktarları [(A: 1, B: 5×10^{-4} M] varlığında askorbik asit oksidasyonu için elde edilen kinetik veriler



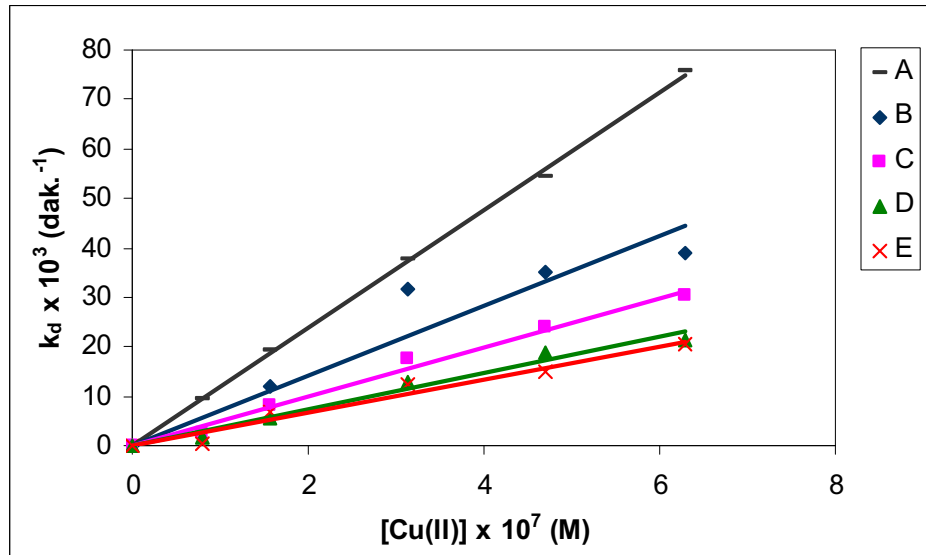
Şekil 4.42 Asetat tamponlu alanin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Ala], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



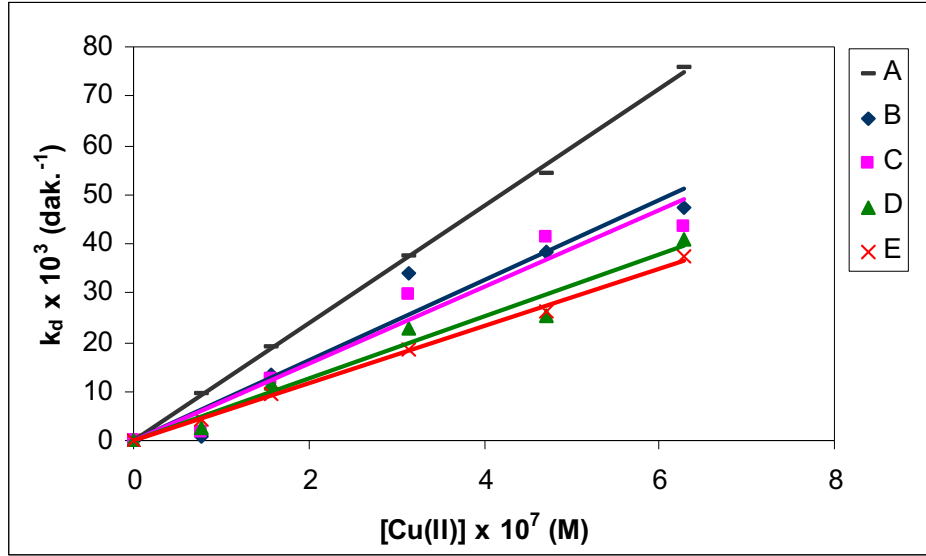
Şekil 4.43 Asetat tamponlu asparajin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Asn], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



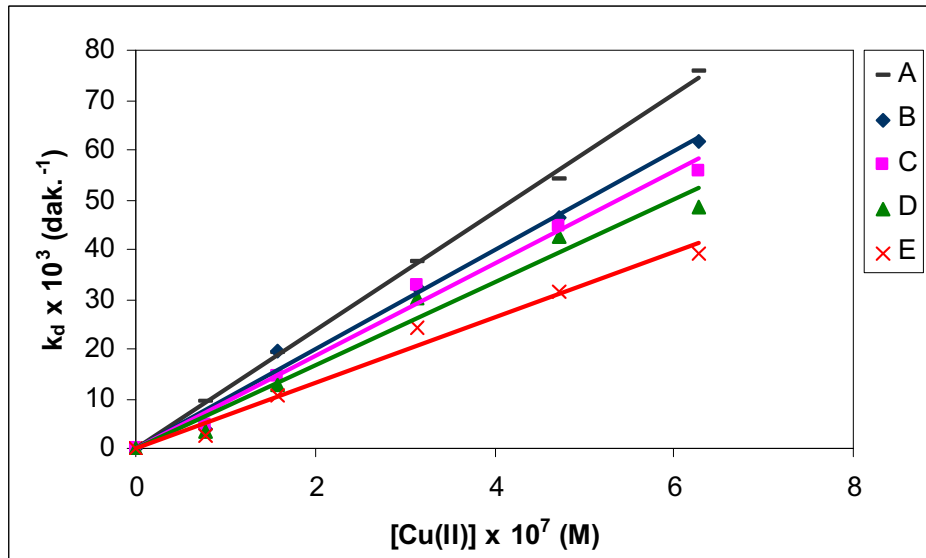
Şekil 4.44 Asetat tamponlu aspartik asit çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Asp], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



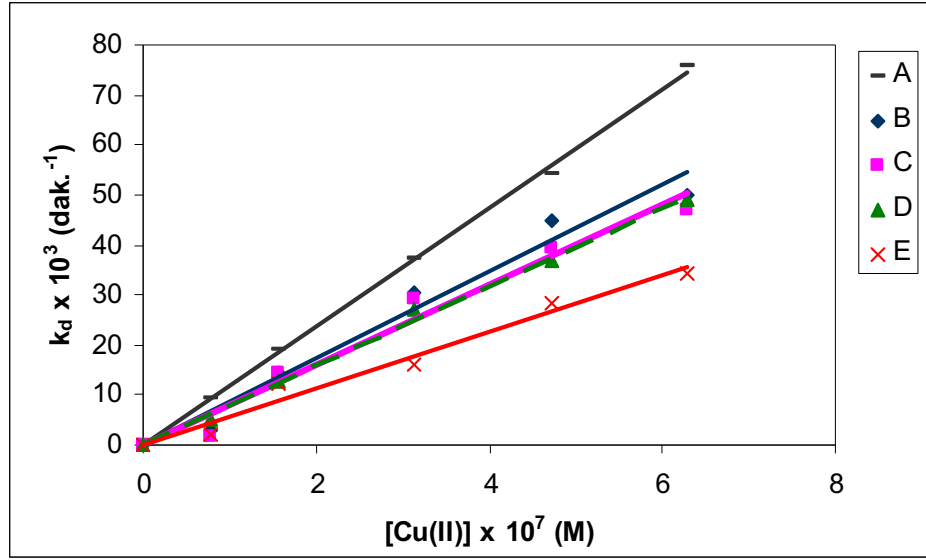
Şekil 4.45 Asetat tamponlu fenilalanin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Phe], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



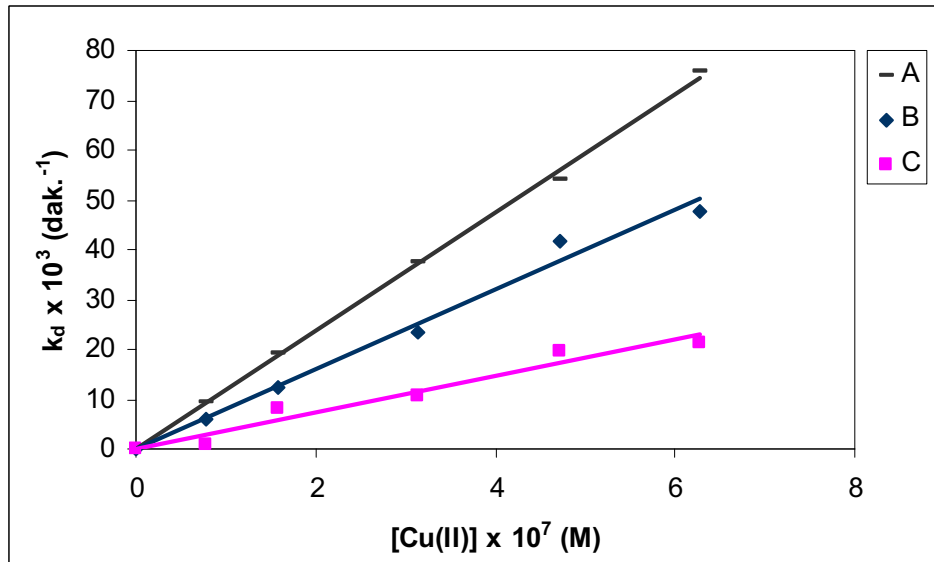
Şekil 4.46 Asetat tamponlu glisin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Gly], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



Şekil 4.47 Asetat tamponlu glutamik asitxHCl çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M GluxHCl], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark



Şekil 4.48 Asetat tamponlu glutamin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5, D: 10, E: 20) x 10⁻⁴ M Gln], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark

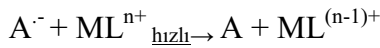
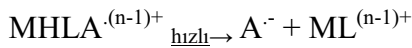
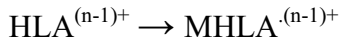
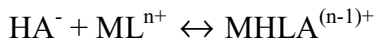
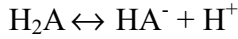


Şekil 4.49 Asetat tamponlu histidin çözeltilerinde Cu(II) iyonunun askorbik asit oksidasyonu üzerine katalitik etkisi [(A: 0, B: 1, C: 5) x 10⁻⁴ M His], k_d = pH 4,5 de bakır varlığında ve yokluğunda birinci dereceden hız sabitleri arasındaki fark

5. TARTIŞMA

pH 4,5 değerinde bakır iyonunun katalizör olarak kullanıldığı AA oksidasyonunun hız eşitliği AA' ya bağlı olarak birinci mertebeden bulundu. AA oksidasyon hız sabiti, sabit Cu(II) konsantrasyonunda, amino asit konsantrasyonunun artmasıyla azaldı ve sabit bir amino asit konsantrasyonunda Cu(II) konsantrasyonunun artmasıyla arttı.

Khan ve Martell (Khan ve Martell, 1967b) bakır (II)-ligand (L) kelatı (ML^{n+}) katalizli askorbik asit (H_2A) oksidasyonu için aşağıdaki mekanizmayı önermişlerdir:



Bu katalitik süreçte katalizör ML^{n+} türünün rejenerasyonu, $ML^{(n-1)+}$ türünün çözünmüş oksijen ile oksidasyonu yoluyla olur. Bu çok adımlı süreçte yavaş (hız belirleyici) adım, üçlü $MHLA^{(n-1)+}$ geçiş kompleksinin monohidrojen askorbat (HA^-) ve Cu(II) – kelatı (ML^{n+})’ndan itibaren oluşumudur. Eğer ikili M-L kelatı çok kararlı ise üçlü geçiş kompleksi tam oluşamayacaktır. Üçlü komplekste gevşek bağlanma, bu kompleksin elektron transferi esnasında kolayca deforme olmasını sağlar. Bu bağlamda Khan ve Martell (Khan ve Martell, 1967b) Cu-kelatları varlığında askorbik asit otoksidasyon hızının, artan Cu-kelat stabilitesi ile azalacağını öngörmüşler ve bu öngörülerine uygun olarak çeşitli metal kelatların logaritmik stabilite sabitleri ile bu kelatların katalitik aktivitesi arasında doğrusal ilişkiler bulmuşlardır. Bununla uyumlu olarak Cu(II)-fenantrolin, Cu(II)-dipiridil (Khan ve Martell, 1967b) ile Cu(II)-tiyoüre (Zhu vd., 2002) kelat komplekslerinin askorbik asit otoksidasyonunu katalizlemede tamamen inaktif olduğu görülmüştür. İncelenen Cu(II)-amino asit (L) sistemlerinde Cu(II)-L kompleksinin kararlılığı arttıkça, CuL kelatının hidrojen askorbat (HA^-) ile üçlü kompleks oluşum eğiliminin azalmasına bağlı olarak otoksidasyon hızının azaldığı gözlenmiştir. Çizelge 4.19’deki spesifik hız sabitlerine bakıldığında denenilen amino asitlerin Cu(II)-katalizli askorbik asit otoksidasyonunu inhibe etme etkinlik sırası: Histidin > fenilalanin $\geq$ asparagin $\geq$ aspartik asit > glisin $\geq$ alanin $\geq$ glutamin > glutamik asit şeklinde olduğu görülür. Bu amino asitlerin Cu(II) ile birinci kompleksleşme sabitlerinin logaritmaları ($\log K_1$) “aynı iyonik kuvvetlerde kaydedilmemiş literatür değerleri” olarak şöyledir: Histidin (10.2-10.6) , fenilalanin (7.7-8.0), asparagin (7.9), aspartik asit (8.6), glisin (8.3-8.6), alanin (8.2), glutamin (7.8), glutamik asit (7.9) (Berthon, 1995). Burada hiç kuşkusuz tam bir korelasyon kurabilmek için bu amino asitlerin (H_2L), Cu(II) ile hem birinci

hem de ikinci kompleksleşme sabitlerini bilmek, aynı zamanda ilgili amino asitlerin asitlik sabitlerini de kullanarak deneylerin yapıldığı pH'ta (pH=4.5) Cu(II)-amino asit komplekslerinin koşullu oluşum sabitlerini bulmak gerekir. Bu şekilde hesaplanacak koşullu oluşum sabitleri ile CuL komplekslerinin 'askorbik asidin otoksidasyon inhibisyonu' etkinlikleri arasında daha sağlam ilişkiler kurulabilir. Gözlenen inhibisyon sırasından kesin olarak çıkarılabilecek bir sonuç, Log K_1 değerleri itibarıyla (literatürden alınan stabilite sabitleri farklı yöntemlerle ve farklı iyonik kuvvetlerde ölçülmüş olduğundan) bir denel kesinsizlik marjı içinde 10.2-10.6 değerleri gösteren histidin, 8.2-8.6 değerleri arasında yer alan aspartik asit-glisin-alanin üçlüsünden daha etkin, bu üçlü ise 7.8-7.9 değerleri gösteren glutamin-glutamik asit ikilisinden daha etkindir. Bu da Khan ve Martell'in kuramsal öngörülerine uygundur (Khan ve Martell, 1967b). Söz konusu amino asitler proteinlerin yapı taşlarını oluşturduğundan, fizyolojik sıvılar içinde askorbik asidin transisyon metal iyonu katalizli oksidatif parçalanması ve bununla birlikte doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen türleri oluşum reaksiyonlarından (örneğin, $\text{Cu(II)} + \text{askorbik asit} \rightarrow \text{Cu(I)} + \text{dehidro askorbik asit}$ ve Fenton reaksiyonu: $\text{Cu(I)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{Cu(II)} + \text{OH}^-$) korunması sürecinde bu amino asitlerin insan sağlığı için olumlu işlevi olabileceğini düşündürmektedir.

Haber Weiss reaksiyonu ($\text{Cu(II)} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{Cu(I)} + \text{O}_2$; $\text{Cu(I)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu(II)} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$; toplu reaksiyon: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{O}_2 + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$) ve Fenton reaksiyonları sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin biyolojik makromoleküllere (protein, lipid, DNA, vb.) hasar verdiği öteden beri bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Halliwell ve Auroma, 1991).

Bakır bağlayarak çeşitli oksidan ve antioksidan özellikler gösteren biyoinorganik kompleksler veren proteinler üzerinde Cu bağlanması ve indirgenmesinden sorumlu başlıca amino asit kalıntıları; histidin, sistein ve triptofan olarak belirlenmiştir (Opazo vd., 2003). Özellikle prooksidan davranış gösteren (yani Cu bağlamakla reaktif oksijen türleri jenerasyonuna katkıda bulunan) protein ve polipeptidlerin nörodejeneratif hastalıklara yol açtıklarına ilişkin güçlü bulgular vardır. İşte bu noktada, Çizelge 4.19'daki spesifik hız sabitlerinden Cu-katalizli askorbik asit otoksidasyonunu en fazla inhibe ettiği gözlenen histidin'in aynı zamanda insan ve memeli hayvan serumunda bakır bağlanması ve taşınmasından birinci derecede sorumlu amino asit olduğu (Lee vd., 2002) düşünüldüğünde, bu amino asidin insan sağlığı için önemi vurgulanmış olmaktadır.

(Cu(II)- Asparagin ($\log \beta_1 = 7.9$ ve $\log \beta_2 = 14.4$), Cu(II)-glutamin ($\log \beta_1 = 7.75$ ve $\log \beta_2 = 14.25$) ve Cu(II)-histidin ($\log \beta_1 = 10.2$ ve $\log \beta_2 = 18.3$), Cu(II)-glisin ($\log \beta_1 = 8.6$ ve $\log \beta_2 = 15.54$); 0.1 M KNO_3 çözeltisinde hesaplanarak rapor edilmiş stabilite sabitleri (Berthon, 1995)).

KAYNAKLAR

- Angı, S., (2005), L-Askorbik Asidin Oksidasyonuna Farklı Ortamlarda Bazı Polimerlerin Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E., (2004), “A Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols, Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC method” , J. Agric. Food Chem., 52: 7970 – 7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Altun, M., (2005), “Total Antioxidant Capacity Assay of Human Serum Using Copper(II)-Neocuproine as Chromogenic Oxidant: The CUPRAC Method” , Free Radical Res., 39: 949 – 961.
- Baysal, A., (1984), Beslenme, Hacettepe Üniversitesi Yayını, A/13, Ankara.
- Berthon, G., (1995), “The Stability Constants of Metal Complexes of Amino Acids with Polar Side Chains”, Pure and Applied Chemistry (IUPAC), 67: 1117 – 1240.
- Bottari, E., Festa, M.R. ve Jasionowska, R., (1989), “Copper(II) Complexes with Aspartate and Glutamate” , Polyhedron, 8: 1019 – 1027.
- Davies, M.B., (1992), “Reactions of L-Ascorbic Acid with Transition Metal Complexes” , Polyhedron, 11: 285 – 321.
- Erdik, K., (1993), Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, Gazi Büro Kitabevi, Ankara.
- Ersöz, N., (2002), Askorbik Asidin Metal İyonu Katalizli ve Çeşitli Ortamlarda Oksidasyon Kinetiğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Farrell, J.J., (1977), “Physical and Chemical Properties of the Copper-Alanine System. An Advanced Laboratory System”, J. Chem. Educ., 54: 445.
- Fennema, O.R., (1996), Food Chemistry, Marcel Dekker Inc., New York.
- Fung, Y-S., Luk, S-F., (1985), “Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks and Fruit Juices. Part 1. Background Correction for Direct Ultraviolet Spectrophotometry” , Analyst, 110: 201 – 204.
- Furia, T.E., (1972), CRC Handbook of Food Additives; 2 nd ed.
- Göğüş, F. ve Fadiloğlu, S., (2006), Food Chemistry, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Gözükara, E.M., (2001), Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul.
- Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek, M. ve Apak, R., (2005), “Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid Using Copper(II)-Neocuproine Reagent in Beverages and Pharmaceuticals” , Talanta, 65: 1226 – 1232.
- Gündüz, T., (1990), İnrümentel Analiz, Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara.

Haddad, P., (1977), "Vitamin C Content of Commercial Orange Juices" , J. Chem. Education, 54(3): 192 – 193.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (1989), Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, Oxford.

Halliwell, B., Auroma, O.I., (1991), "DNA Damage by Oxygen-Derived Species: Its Mechanism and Measurements in Mammalian Systems", FEBS Lett., 281: 9 – 19.

Hsieh, Y., - H.P. ve Haris, N.D., (1993), "Effect of Sucrose on Oxygen Uptake of Ascorbic Acid in a Closed Aqueous System" , J. Agric. Food Chem., 41: 259 – 262.

Imer, F., Sonmezoglu, I.C. ve Kozcaz, M., (2003), "The Role of Buffers on the Kinetics of L-Ascorbic Acid Oxidation Catalysed by Copper(II)" , Ital. J. Food Sci., 15: 521 – 529.

Iqbal, M.S., Khurshid, S.J. ve Iqbal, M.Z., (1990), "Antibacterial Activity of Copper-Amino Acid Complexes" , J. Pak. Med. Assoc., 40(9):221.

Jameson, R.F. ve Blackburn, N.J., (1976), "Role of Copper Dimers and the Participation of Copper(II) in the Copper Catalysed Autoxidation of Ascorbic Acid. Part II. Kinetics and Mechanism in 0,100 mol dm⁻³ Potassium Nitrate" , Chem. Soc. Dalton Trans, 534 – 540.

Jameson, R.F. ve Blackburn, N.J., (1982), "The Copper-Catalysed Oxidation of Ascorbic Acid by Dioxygen. Part 4. The Effect of Chloride Ions on the Kinetics and Mechanism" , Chem. Soc. Dalton Trans, 9 – 13.

Kayaalp, O. (1989), "Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji" , Feryal Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.

Keskin, H., (1987), Besin Kimyası, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3450, İstanbul.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1967a), "Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. I. Cupric and Ferric Ion Catalyzed Oxidation" , J. Am. Chem. Soc., 89: 4176 – 4185.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1967b), "Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. II. Cupric and Ferric Chelate Catalyzed Oxidation" , J. Am. Chem. Soc., 89: 7104 – 7111.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1968a), "Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. III. Vanadyl Ion Catalyzed Oxidation" , J. Am. Chem. Soc., 90: 6011 – 6017.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1968b), "The Kinetics of the Reaction of Iron(III) Chelates of Aminopolycarboxylic Acids with Ascorbic Acid" , J. Am. Chem. Soc., 90: 3386 – 3389.

Khan, M.M.T. ve Martell, A.E., (1969), "Metal Ion and Metal Chelate Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Molecular Oxygen. III. Uranyl Ion Catalyzed Oxidation" , J. Am. Chem. Soc., 91: 4668 – 4672.

Khan, M.M.T. ve Shukla, R.S., (1987), "Ru(III)-EDTA Catalyzed Oxidation of Ascorbic Acid by Hydrogen Peroxide in Aqueous Solution" , *Journal of Molecular Catalysis*, 39(2): 139 – 146.

Khan, M.M.T. ve Shukla, R.S., (1991), "Kinetic and Spectroscopic Study of the Formation of an Intermediate Ruthenium(III) Ascorbate Complex in the Oxidation of L-Ascorbic Acid" , *Polyhedron*, 10: 2711 – 2715.

Kimura, M., Yamamoto, M. ve Yamabe, S., (1982), "Kinetics and Mechanism of the L-Ascorbic Acid by Tris(oxalato)cobaltate(II) and Tris(1,10-phenanthroline)(III) Complexes in Aqueous Solution" , *Journal of Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2: 423 – 427.

Lau, O-W., Luk, S-F. ve Wong, K-S., (1986), "Background Correction Method for the Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks, Fruit Juices and Cordials Using Direct Ultraviolet Spectrophotometry" , *Analyst*, 111: 665 – 670.

Lee, J., Pena, M.M.O., Nose, Y., Thiele, D.J., (2002), "Biochemical characterization of the human copper transporter Ctrl1" , *The Journal of Biological Chemistry*, 277: 4380 – 4387

Mammadov, R., (2002), *Vitaminler*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Martinez, P., Zuluaga, J. ve Sieiro, C., (1984), "Kinetic Study of Oxidation Ascorbic Acid by Cupric Ions in Acidic Media" , *Z. Phys. Chemie. Leipzig*, 265: 1225 – 1235.

Martinez, P., Zuluaga, J. ve Noheda, P., (1992), "Kinetics of the Oxidation of L-Ascorbic Acid by Diaquatetraaminedicobalt(III) in Acidic Aqueous Solution. Application of the Fuoss Model and the Marcus-Sutin Cross-Relationship for Electron-Transfer Processes" , *Inorganica Chimica Acta*, 195: 249 – 253.

Mishra, D.K., Dhas, T.P.E., Sharma, P.D., Bhargava, A.P. ve Gupta, Y.K., (1990), "Role of Trace Metal Ions. Kinetics and Mechanism of the Copper(II)-Catalysed Oxidation of Ascorbic Acid with Peroxodiphosphate in Acetate Buffers" , *Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1265 – 1270.

Ogata, Y., Kosugi, Y. ve Morimoto, T., (1968), "Kinetics of the Cupric Salt – Catalyzed Autoxidation of L-Ascorbic Acid in Aqueous Solutions" , *Tetrahedron*, 24: 4057 – 4066.

Mystkowski, E.M. ve Lasocka, D., (1939), "Factors Preventing Oxidation of Ascorbic Acid in Blood Serum" , *Biochem. J.*, 33(9): 1460 – 1464.

Ohta, Y., Shiraishi, N., Nishikawa, T. ve Nishikimi, M., (2000), "Copper – Catalyzed Autoxidation of GSH and L-Ascorbic Acid: Mutual Inhibition of the Respective Oxidations by Their Coexistence" , *Biochim. Biophys. Acta*, 1474: 378 – 382.

Opazo, C., Barria, M.I., Ruiz, F.H., Inestrosa, N.C., (2003) "Copper Reduction by Copper Binding Proteins and Its Relation to Neurodegenerative Diseases" , *Biometals*, 16: 91-98.

Othmer, K.D.F., (1955), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Edited by Raymond, E., Ing-New York, Vol.2, 151.

Ottoway, P.B., (1993), *The Technology of Vitamins in Food*, Hardnolls Ltd., Glasgow.

Packer, L., ve Fuchs, J., (1997), Vitamin C in Health and Disease, Mercel Dekker, Inc., New York.

Pandeya, K.B. ve Patel, R.N., (1991), "Ternary Complexes of Copper(II) with L-Histidine, Aspartic Acid and Glutamic Acid as Primary Ligands and Substituted Imidazoles as Secondary Ligands", Indian Journal of Chemistry, 30:193 – 195.

Pauling, L., (1971), Vitamin and Common Cold, W.H. Freeman and Co., San Fransisco.

Pearlmutter, A.F. ve Stuehr, J., (1968), "Kinetics of Copper(II)-Glycine Interactions in Aqueous Solution", Journal of the American Chemical Soc., 90(4):858-862.

Pelizetti, E., Mentashi, E. ve Pramaura, E., (1978), "Kinetics and Mechanism of Oxidation of Ascorbic Acid Manganese(III) in Aqueous Acidic Perchlorate Media", J. Chem. Soc. Dalton Trans., 61 – 63.

Rao, T.S., Kale, N.R. ve Dalvi, S.P., (1987), "Kinetics and Mechanism of Reaction of L-Ascorbic Acid by 2,6-dichlorophenol-indophenol in Aqueous Solution", React. Kinet. Catal. Lett., 34: 179 – 184.

Rogacheva, S.M., Kuntcheva, M.J., Panchev, I.N. ve Obretenov, T.D., (1999), "Melanoidin Formation in L-Ascorbic Acid- α -amino acids Interaction. A Comparative Study", Nahrung 43: 105 – 108.

Scarpa, M., Vianello, F., Signor, L., Zennaro, L. ve Rigo, A., (1996), "Ascorbate Oxidation Catalyzed by bis(histidine)Copper(II)", Inorg. Chem., 35: 5201 – 5206.

Seib, P.A., Tolbert, B.N., (1989), Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses: Advances in Chemistry Series 200, American Chemical: Washington D. C.

Skoog, A.D., Holler, J.F. ve Nieman, T.A., (1998), Principals of Instrumental Analysis, Itarcourd Brace & Company, Florida.

Skov, K.A. ve Vonderschmitt D.J., (1975), "Kinetics of Iron and Copper Catalysis of Ascorbate Oxidation", Bioinorganic Chemistry, 4(3): 199 – 213.

Skurlatov, Yu. I., Kovner, V.Ya., Travin, S.O., Kirsh, Yu. E., Purmal, A.P. ve Kabanov, V.A., (1979), "The Mechanism of Ascorbic Acid by Cu(II)-poly-4-vinylpyridine Complexes", European Polymer Journal, 15(8): 811 – 815.

Spaeth, E., Baptist, H.V. ve Robert, M., (1962), "Rapid Potentiometric Determination of Ascorbic Acid", Anal. Chem., 34: 1342.

Stahl. E., (1969), Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, New York.

Şahbaz, F. ve Somer G., (1993), "The Effect of Citrate Anions on the Kinetics of Cupric Ion-Catalysed Oxidation of Ascorbic Acid", Food Chem., 47: 345 – 349.

Tekman, Ş. ve Öner, N., (1994), Genel Biyokimya Dersleri, İ.Ü Yayınları, Fakülteler Matbaası, İstanbul.

Telefoncu, A., (1992), Tıp ve Fen Bilimciler İçin Biyokimya, Arkadaş Tıp Kitapları.

The Merck Index, (1989), (11th Ed.), Merck and Co., Inc. Rahway, New York.

Tribble, D.L., Thiel, P.M., Van den Berg, J.J.M. ve Krauss, R.M., (1995), “Differing α -Tocopherol Oxidative Lability and Ascorbic Acid Sparing Effects in Buoyant and Dense LDL”, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 15: 2025 – 2031.

Venelinov, T., Arpadjan S., Karadjova, I., Beattie, J., (2006), “Properties of the Copper(II)-Histidine Complex Obtained After Dialysis of Human Plasma with Histidine”, *Acta Pharm.*, 56: 105 – 112.

Weast, R.C., (1982), *CRC Handbook of Chemistry and Physics*; 62 nd ed. Chemical Rubber Co. Florida.

Winkler, B.S., (1987), “In Vitro Oxidation of Ascorbic Acid and Its Prevention of GSH”, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 925(3): 258 – 264.

Xu, J. ve Jordan, R.B., (1990), “Kinetics and Mechanism of the Reaction of Aqueous Copper(II) with Ascorbic Acid”, *Inor. Chem.*, 29: 2933 – 2936.

Yıldıoğan, B., (2006), Aspartam İçeren Havalandırılmış Çözeltide L-Askorbik Asidin Bakır(II) ve Demir(III) Katalizli Oksidasyon Kinetiğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zhu, B.Z., Antholine, W.E., ve Frei, B., (2002), “Thiourea Protects Against Copper-Induced Oxidative Damage by Formation of a Redox-Inactive Thiourea –Copper Complex”, *Free Radical Biol. and Med.*, 32: 1333.

www.vitamins.supplements.org

www.vitamin.stuff.com

EKLER

Ek-1 pH 4,5 da Cu(II) iyonları varlığında farklı amino asit ve konsantrasyonlarda spesifik hız sabitlerinin standart sapma hesapları

10^{-4} M Alanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,7185	0	6,E-05	6E-08	0	-6E-08	3,60E-15	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21428
0,785	7,7185	0,00606	6,E-05	0,00606	4,444	-0,00162	2,61E-06	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21428
1,57	7,7185	0,01212	6,E-05	0,01212	13,484	0,00137	1,87E-06	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21428
3,14	7,7185	0,02424	6,E-05	0,02424	24,904	0,00067	4,46E-07	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,21428
4,71	7,7185	0,03635	6,E-05	0,03635	36,574	0,00022	4,83E-08	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21428
6,28	7,7185	0,04847	6,E-05	0,04847	47,834	-0,00064	4,07E-07	5,38E-06	6	4	1,34E-06	0,0011593	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,21428

5×10^{-4} M Alanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,0908	0	0,0002	2,E-07	0	-2,E-07	4E-14	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45345
0,785	7,0908	0,00557	0,0002	0,00557	3,012	-0,00255	6,53E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45345
1,57	7,0908	0,01113	0,0002	0,01113	12,932	0,00180	3,24E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45345
3,14	7,0908	0,02227	0,0002	0,02227	22,602	0,00034	1,13E-07	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,45345
4,71	7,0908	0,03340	0,0002	0,03340	36,262	0,00286	8,20E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45345
6,28	7,0908	0,04453	0,0002	0,04453	42,082	-0,00245	5,99E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024533	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,45345

10^{-3} M Alanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	6,7602	0	0,0002	2,E-07	0	-2,E-07	4E-14	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,27850
0,785	6,7602	0,00531	0,0002	0,00531	4,21	-0,00110	1,20E-06	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,27850
1,57	6,7602	0,01061	0,0002	0,01061	10,79	0,00018	3,11E-08	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,27850
3,14	6,7602	0,02123	0,0002	0,02123	21,84	0,00061	3,75E-07	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,27850
4,71	6,7602	0,03184	0,0002	0,03184	33,92	0,00208	4,32E-06	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,27850
6,28	6,7602	0,04245	0,0002	0,04245	40,68	-0,00177	3,15E-06	9,08E-06	6	4	2,27E-06	0,0015067	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,27850

2x10⁻³ M Alanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	5,9379	0	1,E-05	1E-08	0	-1E-08	1E-16	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,36577
0,785	5,9379	0,00466	1,E-05	0,00466	5,2051	0,00054	2,96E-07	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,36577
1,57	5,9379	0,00932	1,E-05	0,00932	10,9851	0,00166	2,76E-06	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,36577
3,14	5,9379	0,01865	1,E-05	0,01865	15,5351	-0,00311	9,67E-06	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,36577
4,71	5,9379	0,02797	1,E-05	0,02797	27,2951	-0,00067	4,52E-07	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,36577
6,28	5,9379	0,03729	1,E-05	0,03729	38,8651	0,00158	2,48E-06	1,57E-05	6	4	3,92E-06	0,0019789	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,36577

10⁻⁴ M Asparajin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,9214	0	2,E-05	2,E-08	0	-2,E-08	4E-16	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,39210
0,785	7,9214	0,00622	2,E-05	0,00622	3,4968	-0,00272	7,41E-06	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,39210
1,57	7,9214	0,01244	2,E-05	0,01244	14,0468	0,00161	2,59E-06	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,39210
3,14	7,9214	0,02487	2,E-05	0,02487	27,4768	0,00260	6,78E-06	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,39210
4,71	7,9214	0,03731	2,E-05	0,03731	36,7968	-0,00051	2,63E-07	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,39210
6,28	7,9214	0,04975	2,E-05	0,04975	48,7668	-0,00098	9,60E-07	1,80E-05	6	4	4,50E-06	0,0021214	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,39210

5x10⁻⁴ M Asparajin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	6,7716	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,53078
0,785	6,7716	0,00532	2,E-05	0,00532	3,5621	-0,00175	3,08E-06	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,53078
1,57	6,7716	0,01063	2,E-05	0,01063	13,2621	0,00263	6,92E-06	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,53078
3,14	6,7716	0,02126	2,E-05	0,02126	22,4621	0,00120	1,44E-06	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,53078
4,71	6,7716	0,03189	2,E-05	0,03189	27,7421	-0,00415	1,72E-05	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,53078
6,28	6,7716	0,04253	2,E-05	0,04253	44,6021	0,00208	4,31E-06	3,30E-05	6	4	8,25E-06	0,0028717	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,53078

10⁻³ M Asparajin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	4,6759	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,49711
0,785	4,6759	0,00367	2,E-05	0,00367	0,5526	-0,00312	9,72E-06	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,49711
1,57	4,6759	0,00734	2,E-05	0,00734	11,5026	0,00416	1,73E-05	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,49711
3,14	4,6759	0,01468	2,E-05	0,01468	14,5526	-0,00013	1,68E-08	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,49711
4,71	4,6759	0,02202	2,E-05	0,02202	20,7126	-0,00131	1,72E-06	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,49711
6,28	4,6759	0,02936	2,E-05	0,02936	29,7626	0,00040	1,58E-07	2,89E-05	6	4	7,23E-06	0,0026895	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,49711

2x10⁻³ M Asparajin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	3,2445	0	3,E-06	3E-09	0	-3E-09	9E-18	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,32866
0,785	3,2445	0,00255	3,E-06	0,00255	1,5772	-0,00097	9,40E-07	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,32866
1,57	3,2445	0,00509	3,E-06	0,00509	6,5472	0,00145	2,11E-06	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,32866
3,14	3,2445	0,01019	3,E-06	0,01019	11,0372	0,00085	7,22E-07	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,32866
4,71	3,2445	0,01528	3,E-06	0,01528	12,6172	-0,00266	7,10E-06	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,32866
6,28	3,2445	0,02038	3,E-06	0,02038	21,7072	0,00133	1,77E-06	1,26E-05	6	4	3,16E-06	0,0017781	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,32866

10⁻⁴ M Aspartik Asit

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	8,1365	0	0,0001	1,E-07	0	-1,E-07	1E-14	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21824
0,785	8,1365	0,00639	0,0001	0,00639	5,146	-0,00124	1,54E-06	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21824
1,57	8,1365	0,01277	0,0001	0,01277	14,466	0,00169	2,86E-06	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21824
3,14	8,1365	0,02555	0,0001	0,02555	24,836	-0,00071	5,08E-07	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,21824
4,71	8,1365	0,03832	0,0001	0,03832	39,016	0,00069	4,80E-07	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,21824
6,28	8,1365	0,05110	0,0001	0,05110	50,666	-0,00043	1,86E-07	5,58E-06	6	4	1,39E-06	0,0011807	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,21824

5x10⁻⁴ M Aspartik Asit

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,0233	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,41533
0,785	7,0233	0,00551	2,E-05	0,00551	6,7318	0,00122	1,48E-06	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,41533
1,57	7,0233	0,01103	2,E-05	0,01103	12,2418	0,00122	1,48E-06	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,41533
3,14	7,0233	0,02205	2,E-05	0,02205	18,8018	-0,00325	1,06E-05	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,41533
4,71	7,0233	0,03308	2,E-05	0,03308	31,7718	-0,00131	1,71E-06	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,41533
6,28	7,0233	0,04411	2,E-05	0,04411	46,3318	0,00223	4,95E-06	2,02E-05	6	4	5,05E-06	0,002247	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,41533

10⁻³ M Aspartik Asit

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	4,4977	0	1,E-05	1,E-08	0	-1E-08	1E-16	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,14048
0,785	4,4977	0,00353	1,E-05	3,53E-03	3,7548	0,00022	5,02E-08	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,14048
1,57	4,4977	0,00706	1,E-05	7,06E-03	6,1648	-0,00090	8,04E-07	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,14048
3,14	4,4977	0,01412	1,E-05	1,41E-02	15,2648	0,00114	1,30E-06	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,14048
4,71	4,4977	0,02118	1,E-05	2,12E-02	20,8048	-0,00038	1,44E-07	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,14048
6,28	4,4977	0,02825	1,E-05	2,82E-02	28,1548	-0,00009	8,24E-09	2,31E-06	6	4	5,78E-07	0,00076	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,14048

2x10⁻³ M Aspartik Asit

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	3,6418	0	1,E-05	1,E-08	0	-1E-08	1E-16	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40568
0,785	3,6418	0,00286	1,E-05	0,00286	3,6149	0,00076	5,72E-07	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40568
1,57	3,6418	0,00572	1,E-05	0,00572	7,4049	0,00169	2,85E-06	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40568
3,14	3,6418	0,01144	1,E-05	0,01144	7,9749	-0,00346	1,20E-05	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,40568
4,71	3,6418	0,01715	1,E-05	0,01715	16,3649	-0,00079	6,21E-07	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40568
6,28	3,6418	0,02287	1,E-05	0,02287	24,6749	0,00180	3,26E-06	1,93E-05	6	4	4,82E-06	0,0021948	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,40568

10⁻⁴ M Fenilalanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,0512	0	0,0001	1,E-07	0	-1,E-07	1E-14	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	1,20120
0,785	7,0512	0,00554	0,0001	0,00554	-1,198	-0,00673	4,53E-05	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	1,20120
1,57	7,0512	0,01107	0,0001	0,01107	12,022	0,00095	9,05E-07	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	1,20120
3,14	7,0512	0,02214	0,0001	0,02214	31,652	0,00951	9,05E-05	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	1,20120
4,71	7,0512	0,03321	0,0001	0,03321	34,902	0,00169	2,86E-06	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	1,20120
6,28	7,0512	0,04428	0,0001	0,04428	38,862	-0,00542	2,94E-05	1,69E-04	6	4	4,22E-05	0,0064988	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	1,20120

5x10⁻⁴ M Fenilalanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	5,0007	0	3,E-06	3,E-09	0	-3E-09	9E-18	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,23853
0,785	5,0007	0,00393	3,E-06	0,00393	2,5853	-0,00134	1,80E-06	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,23853
1,57	5,0007	0,00785	3,E-06	0,00785	8,0453	0,00019	3,77E-08	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,23853
3,14	5,0007	0,01570	3,E-06	0,01570	17,5453	0,00184	3,40E-06	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,23853
4,71	5,0007	0,02355	3,E-06	0,02355	23,9753	0,00042	1,78E-07	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,23853
6,28	5,0007	0,03140	3,E-06	0,03140	30,2853	-0,00112	1,25E-06	6,66E-06	6	4	1,67E-06	0,0012905	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,23853

10⁻³ M Fenilalanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	3,6723	0	1,E-05	1E-08	0	-1E-08	1E-16	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,25203
0,785	3,6723	0,00288	1,E-05	0,00288	1,7615	-0,00112	1,26E-06	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,25203
1,57	3,6723	0,00577	1,E-05	0,00577	5,6915	-7,40E-05	5,48E-09	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,25203
3,14	3,6723	0,01153	1,E-05	0,01153	12,9315	0,00140	1,96E-06	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,25203
4,71	3,6723	0,01730	1,E-05	0,01730	18,6415	0,00134	1,81E-06	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,25203
6,28	3,6723	0,02306	1,E-05	0,02306	21,5115	-0,00155	2,40E-06	7,44E-06	6	4	1,86E-06	0,0013636	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,25203

2x10⁻³ M Fenilalanin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	3,3516	0	1,E-06	1E-09	0	-1E-09	1E-18	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,31745
0,785	3,3516	0,00263	1,E-06	0,00263	0,4661	-0,00216	4,69E-06	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,31745
1,57	3,3516	0,00526	1,E-06	0,00526	6,7761	0,00151	2,29E-06	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,31745
3,14	3,3516	0,01052	1,E-06	0,01052	12,4861	0,00196	3,85E-06	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,31745
4,71	3,3516	0,01579	1,E-06	0,01579	14,8961	-0,00089	7,92E-07	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,31745
6,28	3,3516	0,02105	1,E-06	0,02105	20,6261	-0,00042	1,78E-07	1,18E-05	6	4	2,95E-06	0,0017175	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,31745

10⁻⁴ M Glisin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	8,1169	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,98336
0,785	8,1169	0,00637	2,E-05	0,00637	1,0154	-0,00536	2,87E-05	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,98336
1,57	8,1169	0,01274	2,E-05	0,01274	13,4054	0,00066	4,38E-07	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,98336
3,14	8,1169	0,02549	2,E-05	0,02549	33,8954	0,00841	7,07E-05	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,98336
4,71	8,1169	0,03823	2,E-05	0,03823	38,1754	-5,52E-05	3,05E-09	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,98336
6,28	8,1169	0,05097	2,E-05	0,05097	47,3154	-0,00366	1,34E-05	1,13E-04	6	4	2,83E-05	0,0053202	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,98336

5x10⁻⁴ M Glisin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,7977	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,90928
0,785	7,7977	0,00612	2,E-05	0,00612	1,6829	-0,00444	1,97E-05	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,90928
1,57	7,7977	0,01224	2,E-05	0,01224	12,4929	0,00025	6,27E-08	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,90928
3,14	7,7977	0,02448	2,E-05	0,02448	29,5929	0,00511	2,61E-05	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,90928
4,71	7,7977	0,03673	2,E-05	0,03673	41,2929	0,00457	2,08E-05	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,90928
6,28	7,7977	0,04897	2,E-05	0,04897	43,4829	-0,00549	3,01E-05	9,68E-05	6	4	2,42E-05	0,0049194	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,90928

10⁻³ M Glisin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	6,3029	0	1,E-05	1E-08	0	-1E-08	1E-16	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,56733
0,785	6,3029	0,00495	1,E-05	0,00495	2,7688	-0,00218	4,75E-06	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,56733
1,57	6,3029	0,00990	1,E-05	0,00990	11,7488	0,00185	3,43E-06	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,56733
3,14	6,3029	0,01979	1,E-05	0,01979	22,9288	0,00314	9,85E-06	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,56733
4,71	6,3029	0,02969	1,E-05	0,02969	25,4788	-0,00421	1,77E-05	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,56733
6,28	6,3029	0,03958	1,E-05	0,03958	40,9788	0,00140	1,95E-06	3,77E-05	6	4	9,42E-06	0,0030694	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,56733

2x10⁻³ M Glisin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	5,8221	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,12365
0,785	5,8221	0,00457	2,E-05	0,00457	4,4235	-0,00015	2,16E-08	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,12365
1,57	5,8221	0,00914	2,E-05	0,00914	9,6435	0,00050	2,53E-07	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,12365
3,14	5,8221	0,01828	2,E-05	0,01828	18,3035	2,21E-05	4,88E-10	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,12365
4,71	5,8221	0,02742	2,E-05	0,02742	26,3835	-0,00104	1,08E-06	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,12365
6,28	5,8221	0,03656	2,E-05	0,03656	37,2235	0,00066	4,37E-07	1,79E-06	6	4	4,48E-07	0,000669	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,12365

120

10⁻⁴ M Glutamik asitxHCl

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	9,946	0	7,E-06	7E-09	0	-7E-09	4,9E-17	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,52403
0,785	9,946	0,00781	7,E-06	0,00781	3,982	-0,00383	1,46E-05	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,52403
1,57	9,946	0,01562	7,E-06	0,01562	19,612	0,00400	1,60E-05	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,52403
3,14	9,946	0,03123	7,E-06	0,03123	32,182	0,00095	9,05E-07	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,52403
4,71	9,946	0,04685	7,E-06	0,04685	46,342	-0,00050	2,54E-07	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,52403
6,28	9,946	0,06246	7,E-06	0,06246	61,842	-0,00062	3,83E-07	3,22E-05	6	4	8,04E-06	0,0028351	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,52403

5x10⁻⁴ M Glutamik asitxHCl

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	9,2751	0	1,E-06	1E-09	0	-1E-09	1E-18	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,46623
0,785	9,2751	0,00728	1,E-06	0,00728	4,8561	-0,00242	5,88E-06	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,46623
1,57	9,2751	0,01456	1,E-06	0,01456	14,6361	7,42E-05	5,50E-09	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,46623
3,14	9,2751	0,02912	1,E-06	0,02912	32,6661	0,00354	1,25E-05	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,46623
4,71	9,2751	0,04369	1,E-06	0,04369	44,8661	0,00118	1,39E-06	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,46623
6,28	9,2751	0,05825	1,E-06	0,05825	55,8761	-0,00237	5,62E-06	2,55E-05	6	4	6,36E-06	0,0025224	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,46623

10⁻³ M Glutamik asitxHCl

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	8,3234	0	2,E-05	2E-08	0	-2E-08	4E-16	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,65748
0,785	8,3234	0,00653	2,E-05	0,00653	3,6121	-0,00292	8,54E-06	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,65748
1,57	8,3234	0,01307	2,E-05	0,01307	12,7521	-0,00032	9,96E-08	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,65748
3,14	8,3234	0,02614	2,E-05	0,02614	30,1021	0,00397	1,57E-05	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,65748
4,71	8,3234	0,03920	2,E-05	0,03920	42,4421	0,00324	1,05E-05	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,65748
6,28	8,3234	0,05227	2,E-05	0,05227	48,3021	-0,00397	1,58E-05	5,06E-05	6	4	1,27E-05	0,0035571	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,65748

2x10⁻³ M Glutamik asitxHCl

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	6,5419	0	4,E-06	4E-09	0	-4E-09	1,6E-17	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,48007
0,785	6,5419	0,00514	4,E-06	0,00514	2,4908	-0,00264	6,99E-06	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,48007
1,57	6,5419	0,01027	4,E-06	0,01027	10,5808	0,00031	9,61E-08	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,48007
3,14	6,5419	0,02054	4,E-06	0,02054	24,4608	0,00392	1,54E-05	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,48007
4,71	6,5419	0,03081	4,E-06	0,03081	31,3008	0,00049	2,39E-07	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,48007
6,28	6,5419	0,04108	4,E-06	0,04108	39,0108	-0,00207	4,29E-06	2,70E-05	6	4	6,75E-06	0,0025973	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,48007

10⁻⁴ M Glutamin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	8,684	0	0,0003	3,E-07	0	-3,E-07	9E-14	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,72214
0,785	8,684	0,00682	0,0003	0,00682	3,029	-0,00379	1,44E-05	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,72214
1,57	8,684	0,01363	0,0003	0,01363	14,549	0,00091	8,37E-07	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,72214
3,14	8,684	0,02727	0,0003	0,02727	30,519	0,00325	1,06E-05	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,72214
4,71	8,684	0,04090	0,0003	0,04090	44,909	0,00401	1,61E-05	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,72214
6,28	8,684	0,05454	0,0003	0,05454	50,149	-0,00439	1,92E-05	6,11E-05	6	4	1,53E-05	0,0039069	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,72214

5x10⁻⁴ M Glutamin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	8,0093	0	0,0002	2,E-07	0	-2,E-07	4E-14	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,68458
0,785	8,0093	0,00629	0,0002	0,00629	1,791	-0,00450	2,02E-05	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,68458
1,57	8,0093	0,01257	0,0002	0,01257	14,461	0,00189	3,56E-06	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,68458
3,14	8,0093	0,02515	0,0002	0,02515	29,361	0,00421	1,77E-05	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,68458
4,71	8,0093	0,03772	0,0002	0,03772	39,381	0,00166	2,75E-06	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,68458
6,28	8,0093	0,05030	0,0002	0,05030	47,041	-0,00326	1,06E-05	5,49E-05	6	4	1,37E-05	0,0037038	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,68458

10⁻³ M Glutamin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,9048	0	1,E-05	1E-08	0	-1E-08	1E-16	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,22749
0,785	7,9048	0,00621	1,E-05	0,00621	5,094	-0,00111	1,23E-06	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,22749
1,57	7,9048	0,01241	1,E-05	0,01241	12,514	0,00010	1,07E-08	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,22749
3,14	7,9048	0,02482	1,E-05	0,02482	26,884	0,00206	4,26E-06	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,22749
4,71	7,9048	0,03723	1,E-05	0,03723	36,684	-0,00055	3,E-07	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,22749
6,28	7,9048	0,04964	1,E-05	0,04964	49,134	-0,00051	2,58E-07	6,06E-06	6	4	1,51E-06	0,0012308	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,22749

2x10⁻³ M Glutamin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	5,642	0	3,E-05	3E-08	0	-3E-08	9E-16	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45361
0,785	5,642	0,00443	3,E-05	0,00443	2,0716	-0,00236	5,56E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45361
1,57	5,642	0,00886	3,E-05	0,00886	12,1416	0,00328	1,08E-05	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45361
3,14	5,642	0,01772	3,E-05	0,01772	15,9716	-0,00174	3,04E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,45361
4,71	5,642	0,02657	3,E-05	0,02657	28,4616	0,00189	3,56E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,45361
6,28	5,642	0,03543	3,E-05	0,03543	34,3616	-0,00107	1,15E-06	2,41E-05	6	4	6,02E-06	0,0024541	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,45361

10⁻⁴ M Histidin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	7,9796	0	0,0004	4,E-07	0	-4,E-07	1,60E-13	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,47867
0,785	7,9796	0,00626	0,0004	0,00626	6,065	-0,00020	3,98E-08	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,47867
1,57	7,9796	0,01253	0,0004	0,01253	12,385	-0,00014	2,06E-08	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,47867
3,14	7,9796	0,02506	0,0004	0,02506	23,465	-0,00159	2,53E-06	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,47867
4,71	7,9796	0,03758	0,0004	0,03758	41,895	0,00431	1,86E-05	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,47867
6,28	7,9796	0,05011	0,0004	0,05011	47,735	-0,00238	5,65E-06	2,68E-05	6	4	6,71E-06	0,0025897	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,47867

5x10⁻⁴ M Histidin

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	3,6687	0	3,E-05	3,E-08	0	-3E-08	9E-16	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40991
0,785	3,6687	0,00288	3,E-05	2,88E-03	0,7377	-0,00214	4,59E-06	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40991
1,57	3,6687	0,00576	3,E-05	5,76E-03	8,0677	0,00231	5,33E-06	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40991
3,14	3,6687	0,01152	3,E-05	0,01152	10,5777	-0,00094	8,87E-07	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,40991
4,71	3,6687	0,01728	3,E-05	0,01728	19,7377	0,00246	6,04E-06	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,40991
6,28	3,6687	0,02304	3,E-05	0,02304	21,3577	-0,00168	2,83E-06	1,97E-05	6	4	4,92E-06	0,0022177	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,40991

Amino Asit Yok

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U
0	11,89	0	6,E-06	6E-09	0	-6E-09	3,6E-17	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	-2,75E-07	7,55E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,20034
0,785	11,89	0,00933	6,E-06	0,00933	9,4344	0,00010	1,01E-08	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	-1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,20034
1,57	11,89	0,01867	6,E-06	0,01867	19,0644	0,00040	1,58E-07	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	-1,18E-07	1,39E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,20034
3,14	11,89	0,03733	6,E-06	0,03733	37,4544	0,00012	1,44E-08	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	3,93E-08	1,54E-15	2,93E-13	5,41E-07	0,20034
4,71	11,89	0,05600	6,E-06	0,05600	54,2244	-0,00178	3,16E-06	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	1,96E-07	3,85E-14	2,93E-13	5,41E-07	0,20034
6,28	11,89	0,07467	6,E-06	0,07467	75,8344	0,00117	1,36E-06	4,70E-06	6	4	1,17E-06	0,0010839	16,485	2,7475	3,53E-07	1,25E-13	2,93E-13	5,41E-07	0,20034

$$y = bx + a$$

$$A = [\text{Cu}^{2+}]$$

$$B = b$$

$$C = b \cdot [\text{Cu}^{2+}]$$

$$D = a$$

$$E = b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a$$

$$F = kd$$

$$G = kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)$$

$$H = [kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)]^2$$

$$I = \sum [kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)]^2 = S_{y/x}$$

$$J = n \text{ (Çalışılan farklı } \text{Cu}^{2+} \text{ konsantrasyonları sayısı)}$$

$$K = n-2$$

$$L = \sum [kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)]^2 / n-2$$

$$M = [\sum [kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)]^2 / n-2]^{1/2}$$

$$N = \sum [\text{Cu}^{2+}]$$

$$O = (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n$$

$$P = [\text{Cu}^{2+}] - (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n$$

$$R = [[\text{Cu}^{2+}] - (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n]^2$$

$$S = \sum [[\text{Cu}^{2+}] - (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n]^2$$

$$T = [\sum [[\text{Cu}^{2+}] - (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n]^2]^{1/2}$$

$$U = \sum [kd - (b \cdot [\text{Cu}^{2+}] + a)]^2 / [\sum [[\text{Cu}^{2+}] - (\sum [\text{Cu}^{2+}]) / n]^2]^{1/2} = S_k$$

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	01.01.1982	
Doğum yeri	İzmir	
Lise	1996 – 2000	İzmir Eşrefpaşa Lisesi
Lisans	2000 – 2004	Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	2005 – 2007	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı